I. Untersuchungen über die Inhaltstoffe der Gänse-, Truthahn- und Entengalle

II. Ueber die von der Anthropodesoxycholsäure sich ableitenden ungesättigten Säuren

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt
im Mai 1940
von

Oliver W. Burke
aus
South Bend, Indiana, USA.

1940

Hansa-Druckerei, Inh. Hans Schneider jun., München 13, Arcisstr. 61

I. Untersuchungen über die Inhaltstoffe der Gänse-, Truthahn- und Entengalle

II. Ueber die von der Anthropodesoxycholsäure sich ableitenden ungesättigten Säuren

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

im Mai 1940

von

Oliver W. Burke

aus

South Bend, Indiana, USA.

Berichterstatter: Geheimrat Professor Dr. H. Wieland

Tag der mündlichen Prüfung: 13. Juni 1940

1940

Hansa-Druckerei, Inh. Hans Schneider jun., München 13, Arcisstr. 61

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die vorliegende Arbeit wurde im Chemischen Laboratorium der Universität München ausgeführt.

Die Anregung zu den Untersuchungen verdanke ich Herrn Geheimrat Professor Dr. H. W i e l a n d , der mir auch in liebenswürdiger Weise Gelegenheit verschaffte in Deutschland chemisch zu arbeiten.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, meinem hochverehrten Lehrer,

Herrn Geheimrat Professor Dr. H. W i e l a n d ,

für das meiner Arbeit entgegengebrachte große Interesse, sowie die jederzeit gewährten Ratschläge herzlich zu danken.

Inhaltsangabe

1.Teil
(theoretisch) Seite

Theoretische Übersicht 1

(experimentell)

Untersuchung der Gänsegalle 6

Untersuchung der Truthahngalle

Erste Aufarbeitung 25
Zweite Aufarbeitung 29

Untersuchung der Entengalle 39

Zusammensetzung der Gallen 43

2.Teil
(theoretisch)

Ergosterin-Reihe 49

Cholsäure-Reihe 51

Anthropodesoxycholsäure-Reihe 56

(experimentell)

Darstellung der Anthropooxycholensäuren mit konz. HCl 60

Darstellung der Anthropooxycholensäuren mit 25 %iger HCl 65

Isomerisation von Anthropooxycholensäure durch Platin 66

Bestrahlung der Anthropooxycholensäure mit ultraviolettem Licht 68

I. Untersuchungen über die Inhaltstoffe der Gänse-, Truthahn- und Entengalle

Theoretischer Teil.

Die Gallen der meisten Haustiere sind von vielen Forschern auf ihre Inhaltstoffe hin weitgehend untersucht worden. Verhältnismäßig wenig untersucht wurden aber die Gallen des Geflügels, so vor allem der Gänse, Truthähne und Enten. Es erschien mir deshalb interessant eine vergleichsweise Aufarbeitung der Gallen dieser drei Tiere durchzuführen, zumal ich in der Lage war, mir das Ausgangsmaterial in den hierzu notwendigen Mengen zu verschaffen. Am besten konnten die Untersuchungen durchgeführt werden an Gänse- und Truthahngallen, während für die Untersuchung der Entengalle verhältnismäßig wenig Substanz zur Verfügung stand.

Das Ergebnis der Untersuchungen ist in der nachfolgenden Tabelle (siehe Seite 2) wiedergegeben.

Weitere Einzelheiten über die Aufarbeitung finden sich im experimentellen Teil.

Die Untersuchung der Gänsegalle führte zu folgendem interessanten Ergebnis. Während der Farbstoffgehalt bei 5 Versuchsreihen in engen Grenzen schwankte (28 bis 35 %), ist eine wesentlich größere Schwankung bei den anderen Inhaltstoffen bemerkenswert; so wurden an Gallensäuren 30-49 % festgestellt, während der Fettsäureanteil zwischen 16 und 42 % liegt. Betrachtet man aber nun den Gallenfarbstoffanteil einerseits und die Summe der Fett- und Gallensäuren andererseits, so findet man hier ein nahezu konstantes Verhältnis. Die Produktion an Gallenfarbstoff scheint also konstant gehalten zu werden, während ein Mehr an Gallensäuren durch entsprechend weniger Fettsäuren ausgeglichen wird und umgekehrt. Die starken Schwankungen im Fettsäureanteil einerseits und der Gallen-

Aufarbeitung	Farbstoff		Extraktion mit				Mutterlauge		Summe der Gallen-und Fettsäuren	Gesamt-Ausgangssubstanz
			15 %iger HCl		25 %iger HCl					
	g	%	g	%	g	%	g	%	%	g
1. Gänsegalle										
Gans I	85	30			121	43	77	27	70	283
Gans II	45	33			58	43	33	24	67	136
Gans III	135	28			142	30	202	42	72	479
Gans IV	154	35			210	49	69	16	65	433
Gans V +)	48	30			78	49	33	21	70	159
2. Truthahngalle										
Truthahn I++)	7.2	14	0.2	0.48	8.6	20.3	26.5	62	82,8	42.3
Truthahn II	16.1	9	1.6	0.99	11 5	64.7	45.1	25	90.7	178
3. Entengalle										
Ente	1 57	14	0.17	1.6	6 82	63	2.34	21	85.6	10.9

+) Diese Aufarbeitung wurde den im experimentellen Teil beschriebenen Versuchen zugrunde gelegt.

++) Diese zur Aufarbeitung gelangten Gallen konnten nicht ganz frisch verseift werden. Die unverseifte Gallenflüssigkeit stand 10 Tage im Eisschrank. Wegen des großen Wertes der Gallen wurde die Verseifung durchgeführt, obwohl ein geringer Fäulnisprozess schon eingesetzt hatte.

säuren andererseits können wohl auf die verschiedenen Ernährungsbedingungen und Jahreszeiten zurückzuführen sein, zumal sich die Untersuchungen über ein ganzes Jahr erstreckten. Das Tier scheint also unter verschiedenen Ernährungsbedingungen nicht in der Lage zu sein, die Menge des Gallenfarbstoffes zu ändern, reagiert aber darauf so, dass es jeweils das Verhältnis zwischen Gallen- und Fettsäuren den neuen Bedingungen anpasst.

Da bei der Truthahngalle nur zwei Versuchsreihen vorliegen, lassen sich diese interessanten Ergebnisse darin nicht weiter verfolgen, doch scheint auch hier - wie aus den beiden Untersuchungen hervorgeht - ein ähnliches Wechselspiel zwischen Gallen- und Fettsäuren vorzuliegen.

Die nähere Untersuchung der Gallensäuren in der Gänsegalle ergab, dass als einziger Vertreter die Anthropodesoxycholsäure isoliert werden konnte und zwar durch Extraktion mit 25 %iger HCl. Aus 15 %iger HCl, mit der die Trioxysäuren ausgeschieden werden können, ließ sich keine Gallensäure isolieren.

Bei der Truthahngalle finden wir dieselben wechselnden Mengen der Inhaltstoffe. Die Schwankung im Farbstoffgehalt ist in der gleichen Größenordnung wie bei der Gänsegalle 8 %, während bei der Anthropodesoxycholsäure und den Fettsäuren wesentlich größere Unterschiede zu finden sind, 20.3 - 64.7 % bezw. 25 - 62 % (die Gallen zu den beiden Versuchsreihen stammten aus zwei verschiedenen Jahren und aus verschiedenen Gegenden von Nord-Amerika). Überraschend war, dass in der Truthahngalle Cholsäure mit 15 %iger HCl ausgeschüttelt werden konnte und zwar 0.48 % bezw. 0.9 %. Während diese in der Gänsegalle nicht aufgefunden werden konnte, ist ihr Vorkommen aber schon in der Hühnergalle sichergestellt worden (1).

---

1) K. Yamasaki, Journ.Bioch. Japan 18, 323 (1933).

Die Untersuchung der Entengalle konnte wegen Materialmangel nur einmal durchgeführt werden, doch wurde diese Aufarbeitung quantitativ durchgeführt. Als Ergebnis ist festzustellen, dass auch hier als Hauptbestandteil sich Anthropodesoxycholsäure findet und zwar in einer Ausbeute von 63 %, ein Gehalt, der auch einmal bei der Truthahngalle gefunden wurde. Der Farbstoffgehalt ging mit 14 % in der gleichen Richtung wie bei der Truthahngalle. Mit 15 %iger HCl ließen sich aus dem Äther 1.6 % Gallensäuren ausschütteln. Nach den bisherigen Erfahrungen sollte dies nun die Cholsäure sein. Überraschenderweise gibt diese Gallensäure aber keine positive Pettenkofer'sche Reaktion auf Cholsäure. Mit 10 %iger Rohrzuckerlösung und konzentrierter Schwefelsäure erhält man statt der zu erwartenden kirschroten Lösung eine Braunfärbung, die bestehen bleibt. Die Liebermann'sche Reaktion ist ebenfalls nicht charakteristisch, weder für Cholsäure noch für Anthropodesoxycholsäure. Da aber - wie im experimentellen Teil näher auseinandergesetzt wird - in 15 %ige HCl nur die Trioxysäuren gehen, könnte es sich bei der fraglichen Substanz möglicherweise um ein Gemisch von Gallensäuren handeln. Die eingehende Untersuchung dieser interessanten Substanz konnte wegen besonderer Umstände leider nicht mehr weitergeführt werden. Der Rückstand der Extraktion mit 25 %iger HCl sollte nach unseren bisherigen Erfahrungen nur noch Fettsäuren und etwas Cholesterin enthalten und in Petroläther bis auf geringe Mengen mitgerissener und eventuelle vorhandener schwacher Gallenbestandteile löslich sein. Bei näherer Untersuchung des Rückstandes der HCl-Extraktion bei Entengalle ergab sich ein ziemlich erheblicher, in Petroläther unlöslicher Anteil (6.2 %). Auch hierbei handelt es sich um ein Gallensäuregemisch, als deren Hauptvertreter Anthropodesoxycholsäure erkannt wurde.

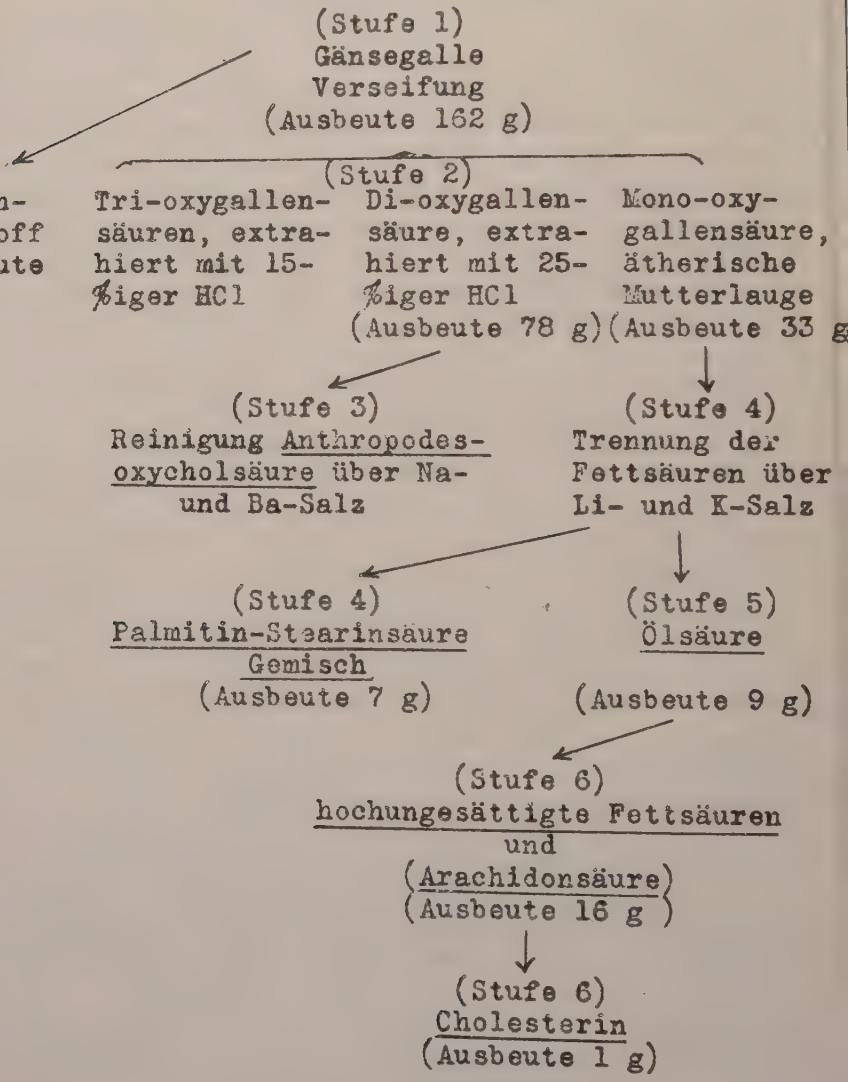
Die Untersuchung der Fettsäuren führte zu folgendem Ergebnis: Als gesättigte Fettsäuren konnte in allen drei Gallen das Palmitin.Stearinsäure-Gemisch isoliert werden, das W i e l a n d bereits in der Rindergalle aufgefunden hatte.

Aus der Reihe der ungesättigten Fettsäuren wurde in der Gänsegalle Ölsäure gefunden, während diese in der Truthahngalle nicht vorkommt, anstatt ihrer findet sich dort die Linolsäure. In beiden Fällen konnte aber noch die Arachidonsäure als Oktobromid isoliert werden. Bei der Entengalle waren die Mengen an isolierten ungesättigten Säuren so klein, dass eine Trennung nicht durchgeführt werden konnte. Lediglich eine Jodzahlbestimmung konnte ausgeführt werden, die aber über die Säure selbst keine Entscheidung zulässt.

Experimenteller Teil.

Untersuchung der Gänsegalle.

Aufarbeitungs-Schema
(Die isolierten Substanzen sind durch Unterstreichungen hervorgehoben)



Die Gänsegalle (1) ist schon vor vielen Jahren untersucht worden. Als einzige Säure konnte die „Chenocholsäure" isoliert werden. Dieser Säure wurde zuerst eine Formel mit 27 C-Atomen zugeschrieben. Erst W i n d a u s (2) und Mitarbeiter konnten die richtige Formel $C_{24}H_{40}O_4$ feststellen und nannten sie Chenodesoxycholsäure. Die Säure ist identisch mit der von W i e l a n d (3) auch in der Menschengalle aufgefundenen Anthropodesoxycholsäure.

In unserer Versuchsreihe der vergleichbaren Aufarbeitung der Gänse-, Truthahn- und Entengalle benutzten wir die Gelegenheit bei der quantitativen Aufarbeitung auch nach eventuell vorhandenen schwachen Gallensäuren zu suchen. Mit Vorteil benutzten wir dabei die neue vereinfachte Methode von W i e l a n d und H e k i (4) und S e i b e r t (5), die auf der Trennung der Gallensäuren mit Salzsäure verschiedener Konzentration beruht. W i e l a n d und H e k i konnten zeigen, dass man aus der ätherischen Gallensäurelösung mit 15 %iger Salzsäure - gesättigt mit Äther - die Tri-oxygallensäure, wie z.B. Cholsäure, fast quantitativ ausschütteln kann. Während die Di-oxygallensäuren, z.B. Anthropodesoxycholsäure, sich mit 25 %iger Salzsäure ausziehen lassen, bleiben die Mono-oxygallensäuren, z.B. Lithocholsäure, in der ätherischen Mutterlauge zurück. Die Versuche von H e k i und später von S e i b e r t mit den reinen Gallensäuren zeigten, dass die Ausschüttelung mit Salzsäure tatsächlich nahezu quantitativ verläuft +).

---

1) Lettré u. Inhoffen, Über Sterine und Gallensäuren. 1936, Seite 43.
2) Windaus, Bohne u. Schwarzkopf, H. 140, 174 (1924).
3) H.Wieland u. Reverey, H. 140, 186 (1924).
4) M.Heki, unveröffentlichtes Manuskript.
5) Seibert, Diss. München 1939 u. H. 262, 1 (1939).
+) Sind in der Lösung größere Mengen Fettsäuren vorhanden, so wird ein geringer Teil der gesamten Gallensäuren festgehalten. Die genaue Untersuchung

Sie benutzten reine Chol- und Desoxycholsäure. Wir ergänzten die Versuche dahingehend, dass wir noch die der Desoxycholsäure isomere Anthropodesoxycholsäure auf ihr Verhalten beim Ausschütteln mit 25-%iger Salzsäure prüften. Wie zu erwarten, liess sich auch hierbei die reine Säure aus der Lösung fast quantitativ mit 25 %iger Salzsäure ausschütteln. Der erste Versuch, der gemeinsam mit Herrn S e i b e r t durchgeführt wurde, bestätigte die Ergebnisse im wesentlichen. Allerdings sind die Werte nicht ganz zuverlässig, da in sehr konzentrierter Lösung gearbeitet wurde. Das Ergebnis eines von mir in verdünnter Lösung vorgenommenen Versuches, ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

Tabelle 1.

1.805 g reine Anthropodesoxycholsäure gelöst in 200 ccm Äther; ausgeschüttelt wurde jeweils mit 20 ccm 25 %ige Salzsäure (gesättigt mit Äther).

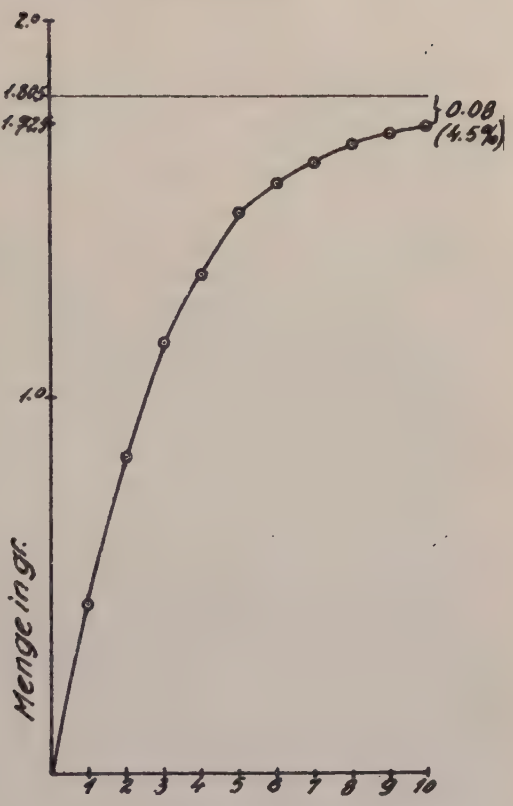
Nummer der Ausschüttelung	ausgeschüttelte Menge in g	Summe der bis dahin ausgeschüttelten Menge an Säure in g
1	0.450	0.450
2	0.390	0.840
3	0.300	1.140
4	0.190	1.330
5	0.130	1.490
6	0.080	1.570
7	0.060	1.630
8	0.045	1.675
9	0.030	1.705
10	0.020	1.725
	0.080 +)	1.725

+) die im Äther verbliebene restliche Substanz = 4.5 % von 1.805 g der ursprünglichen Substanz.

ergab, dass die zurückgehaltenen mengenmäßig ungefähr im gleichen Verhältnis ihres Vorkommens stehen. Fettsäuren und Cholesterin lösten sich bei den angewandten Bedingungen in 15- bzw. 25 %iger Salzsäure nicht auf.

Figur 1.

Jeder Punkt der Kurve gibt die Summe der bis dahin ausgeschüttelten Mengen an Säuren in Gramm an, so z.B. in Punkt 4 die nach der vierten Ausschüttelung erhaltene Gesamtmenge.



Im Hinblick auf die physiologische Bedeutung der mit den Gallensäuren zusammen vorkommenden Fettsäuren wurde mit der Aufarbeitung der Gallensäuren auch die quantitative Bestimmung dieser Fettsäuren durchgeführt.

Aufarbeitung der Gänsegalle.

Stufe 1.[+] Verseifung der Gallensäuren und Abtrennung vom Farbstoff.

830 frische Gänsegallen, die nicht länger als 3 Tage im Eisschrank aufbewahrt werden konnten, ergaben 4100 ccm Gallenflüssigkeit. Diese wurden mit 10 % ihres Gewichts fester Kalilauge versetzt [++]. Die Lösung wird dann 24 Stunden unter Rückfluss gekocht. Die Verseifung ist dann beendet. Beim Ansäuern mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion fallen die Gallensäuren als grünschwarze Schmieren aus. Ausbeute an trockener Substanz 162 g.

Der noch feuchte Gallensäurekuchen wird in 500 ccm 2 n-Natronlauge und 250 ccm Wasser gelöst. Diese Lösung wird unter 1500 ccm Äther angesäuert. Nach Abtrennen der ätherischen Gallensäurelösung wird wieder mit Natronlauge alkalisiert und abermals unter 1000 ccm Äther angesäuert. Diese Operation wird nach Abtrennen der ätherischen Lösung noch zweimal mit je 250 ccm Äther wiederholt. Die vereinigten ätherischen Lösungen bleiben zwei Tage ruhig stehen. Dabei fallen noch etwa 1 g mit in Lösung gegangenen Gallenfarbstoffs aus. Es ist unbedingt erforderlich, dass dieser entfernt wird, da er nachher den Trennungsgang empfindlich stören würde. Ausbeute an ätherlöslichen Gallen- und Fettsäuren 113 g, ätherunlöslicher Gallenfarbstoff 48 g [+++].

[+] Die angegebenen Nummern beziehen sich auf das Schema der Aufarbeitung, siehe Seite 6.

[++] Die alkalische Lösung ist über 6 Monate lang ohne Zersetzung haltbar. Es ist nicht notwendig die Gallenflüssigkeit mit Alkohol vorher schleimfrei zu machen.

[+++] Der Gallenfarbstoff wurde mit Ammoniak gelöst und $BaCl_2$ als Bariumsalz gefällt. Die getrockneten Bariumsalze wurden mit Sand gemischt, um

Stufe 2. Trennung der Gallensäuregruppen mit Salzsäure verschiedener Konzentration.

Die oben erhaltene ätherische Lösung der Gallensäuren, 3 Liter, wird auf 2000 ccm eingeengt und zur Entfernung etwa vorhandener Tri-oxysäuren mit 15 %iger äthergesättigter Salzsäure - ca. 100 ccm Äther auf 1000 ccm 15 %ige Salzsäure - ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wird 5-mal mit je 150 ccm 15 %iger

---

ein Verkleben zu verhindern und dann aus der Hülse mit abs. Äthanol ausgezogen, wobei neben wenig Farbstoff die Bariumsalze der zurückgehaltenen Gallensäuren in Lösung gingen. Die nach Zerlegen der Bariumsalze aus Äther erhaltenen Säuren wurden nach der Salzsäuremethode getrennt. Es lösten sich in Alkohol bei der Extraktion 7 g, davon gingen in Äther 4 g. Mit 15 %iger Salzsäure konnten 0.02 g, mit 25 %iger Salzsäure 3.3 g ausgeschüttelt werden. Es blieben 0.6 g in der ätherischen Mutterlauge zurück. Die mit 25 %iger Salzsäure ausgeschüttelten 3.3 g erwiesen sich als Anthropodesoxycholsäure, in Äther zurückgeblieben sind Fettsäuren. Die in Äther unlösliche, stark gefärbte Substanz, 3 g, wurde wieder in das Bariumsalz übergeführt und auf die gleiche Weise wie oben extrahiert und aufgearbeitet. Es wurden dabei 0.1 g eines farblosen Produktes erhalten, das in Äther schwer löslich ist und dessen Liebermann'sche Reaktion etwas mehr blau ist, als die der Anthropodesoxycholsäure. Eine nähere Untersuchung konnte noch nicht durchgeführt werden.

Salzsäure durchgeschüttelt. Diese 150 ccm Salzsäure werden wieder zur Entfernung etwa mitgerissener anderer Gallensäuren in einem zweiten Scheidetrichter mit je 200 ccm frischem Äther durchgeschüttelt. Diese ätherischen Lösungen werden dann zur ätherischen Mutterlauge zugefügt. Die vereinigten salzsauren Lösungen werden in eine Lösung von 140 g wasserfreier Soda in 500 ccm Wasser, die mit 500 ccm Äther überschichtet ist, eingegossen. Nach dem Abtrennen der ätherischen Gallensäurelösung wird die wässrige Phase nochmals mit 200 ccm Äther durchgeschüttelt. Die vereinigten Ätherlösungen werden eingedampft und hinterlassen 2 g stark verschmierte Substanz. Diese gibt eine weinrote Liebermann-Burchard'sche Reaktion, die der Anthropodesoxycholsäure entspricht. Die Pettenkofer'sche Reaktion auf Cholsäure ist negativ. Es handelt sich um mitgerissene Anthropodesoxycholsäure und Fettsäuren, wie die nähere Untersuchung ergab. Trioxysäuren waren keine vorhanden.

Die nach Ausschüttelung mit 15 %iger Salzsäure wieder 3000 ccm betragende dunkelbraune ätherische Mutterlauge wird wieder auf 2000 ccm eingeengt und 10-mal mit 150 ccm 25 %iger Salzsäure, gesättigt mit Äther - 300 ccm Äther auf 1000 ccm 25 %iger Salzsäure - in gleicher Weise wie oben ausgeschüttelt.

Salzsaurer Auszug Nr.11 wurde getrennt neutralisiert. Dabei wurde festgestellt, dass er keine nennenswerten Mengen Gallensäuren mehr enthielt.

Die vereinigten salzsauren Auszüge 1 bis 10 wurden in eine mit 500 ccm Äther überschichtete Lösung von 375 g wasserfreier Soda eingegossen. Die Lösung scheidet sich in drei Phasen, eine wässrige farblose Schicht, eine schmierige stark gefärbte Schicht und eine leicht gefärbte Ätherlösung. Die Ätherlösung wird nach dem Abtrennen zur Trockne gedampft. Der Rückstand einschließlich der schmierigen Schicht wiegt 78 g.

Tabelle 2.

Vers.-Nr.	Ausschüttelung	Farbe der salzsauren Lösung	Volumen der abgetrennten salzsauren Lsg. ccm
1	keine	tiefer braun als Mutterlauge	180
2	wenig	etwas tiefer braun als Mutterlauge	176
3	stark	gleiche Farbe wie Mutterlauge	204
4	stark	heller als Mutterlauge	166
5	stark	hellbraun	164
6	stark	hellbraun	158
7	stark	goldgelb	156
8	stark	leicht goldgelb	154
9	stark	gelb	152
10	stark	hellgelb	150
11	stark	hellgelb	150

ausgeschüttelt wurde jeweils mit 150 ccm

Stufe 3. Aufarbeitung der bei der Extraktion mit 25-%iger Salzsäure angefallenen rohen Gallensäuren.

1) Natriumsalz.

Die 58 g Rohsäuren werden in 78 ccm abs. Alkohol gelöst und mit einer Lösung von 7.8 g Natrium in 78 ccm abs. Äthanol bis zur Phenolphthalein-alkalischen Reaktion versetzt. Nach 1/2 Stunde erstarrt die Mischung zu einem Kristallbrei. Nach dem Absaugen wird mit 10 ccm abs. Äthanol nachgewaschen. Ausbeute 70 g (90 % Ausbeute als Na-Salz).

2) Bariumsalz [+].

Diese 70 g des hellbraunen Natriumsalzes werden in 1500 ccm heißem 96 %igem Äthanol gelöst. Zu der weinroten alkoholischen Lösung des Natriumsalzes werden 450 ccm n/2-Bariumchloridlösung zugefügt. Nach 2 Tagen scheidet sich das Bariumsalz des Farbstoffes am Boden ab. Die Lösung ist nunmehr hellgelb. Diese letzten Reste des Farbstoffes lassen sich auch nicht durch Absorption an Kohle entfernen. Die alkoholische Lösung lässt man langsam in einer offenen Schale eindunsten. Es scheiden sich zuerst 45 g schöne farblose Nadeln des Bariumsalzes ab. Aus der Mutterlauge kristallisieren nach längerem Stehen noch 24 g Bariumsalz aus (Ausbeute 90 %).

[+]) Um die Bedingungen zu finden, unter denen der Farbstoff noch ausfällt, das Bariumsalz der Anthropodesoxycholsäure aber noch in Lösung bleibt, bestimmten wir die Löslichkeit des kristallisierten Bariumsalzes der Säure. Die Löslichkeit beträgt bei 22-23°C in

50 %igem Äthanol ..... 25.41 g/Liter
Wasser ..... 0.79 g/Liter.

Vergleichsweise wurde auch die Löslichkeit des kristallisierten Bariumsalzes (Nadeln aus verd. Alkohol) der Desoxycholsäure untersucht. Sie beträgt bei 22-23°C in

50 %igem Äthanol ..... 11.96 g/Liter
Wasser ..... 0.63 g/Liter.

Nach D o r r e r (Diss. München 1931, S.32) sind die Löslichkeiten des Bariumsalzes bei 22-23°C von

Cholsäure ..... 12.2 g/Liter Wasser
Desoxycholsäure ..... 2.2 g/Liter Wasser
Anthropodesoxycholsäure 1.2 g/Liter Wasser

Es sind diese wesentlich höheren Werte wohl darauf zurückzuführen, dass D o r r e r bei seinen Versuchen keine einwandfrei kristallisierten Substanzen verwendet hat.

3) Die freie Säure.

Das Bariumsalz wird mit einer Natriumcarbonatlösung auf dem Wasserbad kurze Zeit erwärmt und dann das ausgeschiedene Bariumcarbonat abfiltriert. Die freie Säure erhält man aus der wässrigen Lösung des Natriumsalzes durch Ansäuern mit verdünnter Salzsäure. Ausbeute 56 g. Schmelzpunkt 105°.

Drehwert-Bestimmung:

10 ccm Methanol; 2 dcm-Rohr; E = 268.7 mg

α = + 0.80° $[\alpha]_D^{23}$ = + 14.9°

Es ist reine Anthropodesoxycholsäure.

Stufe 4. Trennung der Fettsäuren über Kalium- und Lithiumsalze.

Die Verwendung von Kalium- und Lithiumsalzen zur Trennung der Fettsäuren von den Gallensäuren (1) hat sich als sehr zweckmäßig erwiesen, da die Salze der Gallensäuren in Alkohol sehr leicht löslich sind, während die entsprechenden Salze der Fettsäuren ziemlich schwer löslich sind. Die Methode ist genügend genau. Zur Reinigung empfiehlt N i e g e m a n n (2) die Kristallisation der Kaliumsalze der festen Fettsäuren als Alkohol.

Die ätherischen Mutterlaugen, die in Stufe 2 nach Ausschütteln mit 25 %iger Salzsäure zurückbleiben, werden zur Trockne eingedampft und hinterlassen 33 g trockenen Rückstand, der aus Fettsäuren und eventuell vorhandenen schwachen Gallensäuren besteht. Man löst in 330 ccm 96 %igem Äthanol und versetzt mit einer Lösung von 9 g Kaliumhydroxyd in 45 ccm Methanol. Nach zweitägigem Stehen scheidet sich 4.3 g Kaliumsalz der festen Fettsäuren ab.

---

1) Dissertation Seibert, München 1939.
2) Z.angew.Chem. 30, 206 (1917).

Um die Reste der in Lösung gebliebenen festen Fettsäuren und den größten Teil der Ölsäure auszufällen, wird die Mutterlauge der Kaliumsalzkristallisation mit einer Lösung von 4.5 g Lithiumchlorid+) in 112 ccm Methanol versetzt. Nach 2 Tagen Stehen im Eisschrank scheiden sich 15 g kristallisiertes Lithiumsalz aus. Die erhaltenen Kalium- und Lithiumsalze sind - wie die Liebermann'sche Probe zeigt - vollkommen gallensäurefrei.

Die erhaltenen 4.3 g Kaliumsalze - hauptsächlich Palmitin- und Stearinsäure - und die 14 g Lithiumsalze - hauptsächlich Ölsäure - werden zusammen in Natriumcarbonatlösung suspendiert und unter Äther mit Salzsäure angesäuert. Aus der eingedampften Ätherlösung erhält man 16 g Fettsäuren.

Zur quantitativen Trennung der festen Säuren von der Ölsäure wurde die von T w i t c h e l l (1) ausgearbeitete Methode der Trennung über die Bleisalze benutzt. Die 16 g Fettsäuren werden in 320 ccm 96 %igem Äthanol heiß gelöst und dazu eine heiße Lösung von 16 g Bleiacetat in 20 ccm Wasser und 200 ccm Äthanol gefügt. Die geringe Menge ausfallenden Farbstoffes wird heiß filtriert. Die heiße Lösung wird ganz langsam abgekühlt, damit Palmitin- und Stearinsäure als kristallisierte Bleisalze ausfallen. Nach eintägigem Stehen bei Zimmertemperatur verbleibt die Lösung noch 2 Tage im Eisschrank. Ausbeute an kristallisiertem Bleisalz 8.8 g.

---

1) Eng. 13, 806 (1921).

+) Nach P a r t h e i l und F e r i é , Arch. Pharm. 241, 561 (1903), ist die Trennung über die Lithiumsalze nicht quantitativ. Für unsere Zwecke aber ausreichend, da die Mutterlaugen anschließend eingedampft werden und der Rückstand mit Petroläther zur Entfernung der hoch ungesättigten Säuren behandelt wird, wobei auch die letzten Reste Ölsäure entfernt werden.

Die Bleisalze werden unter Äther mit verdünnter Salpetersäure zerlegt. Die ätherische Lösung wird mit Wasser salpetersäurefrei gewaschen. Nach Verdunsten des Äthers hinterbleiben 6.9 g Fettsäuren. Das Fettsäuregemisch aus Palmitin- und Stearinsäure wird nach der Methode von D a v i d (1) über die Ammonsalze durch zweimalige Kristallisation gereinigt. Das durch Zerlegen mit Salzsäure aus Äther erhaltene Fettsäuregemisch hatte einen Schmelzpunkt von 55°- 56°.

Ein bei einer Aufarbeitung von Rindergalle anfallendes Fettsäuregemisch, das nach der gleichen Methode gereinigt wurde, hatte einen Schmelzpunkt von 56° bis 58°. Der Mischschmelzpunkt der beiden Fettsäuregemische lag bei 56°- 57°.

W i e l a n d und S o r g e (2) haben gezeigt, dass ein Fettsäuregemisch von Palmitin- und Stearinsäure (Schmp. 57-58°) aus Rindergalle aus ungefähr gleichen Teilen Palmitin- und Stearinsäure besteht.

Das Fettsäuregemisch mit dem Schmelzpunkt 55-56° wurde dreimal aus 70 %igem Äthanol umkristallisiert, wobei der Schmelzpunkt auf 56-57° stieg.

3.452 mg Subst. (bei Zimmertemp. über P_2O_5 getr., keine Abnahme): 9.311 mg CO_2, 3.767 mg H_2O, 0.056 mg Asche.

$C_{17}H_{34}O_2$	Ber.	C	75.60	H	12.60
	Gef.		75.00		12.40

Die Analyse zeigt, dass auch hier ein fast gleiches Gemisch von Palmitin- und Stearinsäure vorliegt.

Stufe 5. Isolierung der Ölsäure.

Das alkoholische Filtrat der Bleisalzfällung wird eingedampft und das Bleisalz der Ölsäure unter Äther

---

1) Compt.rend. 151, 756 (1910). - Chem.Zbl. 1911 I, S.41.

2) H. 97, 14 (1916).

mit verd. Salpetersäure zerlegt. Aus der ätherischen Lösung erhält man 9 g Ölsäure. Die Bestimmung der Jodzahl nach H a n u s ergab 91.9. Die Jodzahlbestimmung des gefällten Lithiumsalzes ergab 91.4 und 92.3 +). Die Jodzahl bei reiner Ölsäure ist 89.93. Demnach ist die Ölsäure mit einer geringen Menge einer stark ungesättigten Säure verunreinigt. Um aber ganz sicher zu gehen, dass es sich auch wirklich um Ölsäure handelte und nicht um eine andere Substanz mit ähnlicher Jodzahl wurde die Ölsäure oxydativ abgebaut.

Nach der Vorschrift von B a u e r und H a z u r a (1) wurden 3 g Ölsäure mit 3.6 ccm Kalilauge (d = 1.27) neutralisiert und die Lösung mit Wasser auf 200 ccm verdünnt. Unter Eiskühlung wurden 200 ccm 1.5 %ige Kaliumpermanganatlösung zugetropft. Nach 10 Minuten wurde der ausgeschiedene Braunstein mit schwefliger Säure vollkommen in Lösung gebracht. Die Lösung muss dann sauer reagieren. Dabei fiel die Dioxystearinsäure aus. Nach Absaugen und Trocknen wurde die Säure zuerst mit Petroläther zur Entfernung eventuell nicht oxydierter Anteile extrahiert. Dann mit Äther, wobei die Dioxystearinsäure in Lösung ging. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus 96 %igem Äthanol zeigte die Säure einen Schmelzpunkt von 136.5° (Literaturangabe 136.5°) (2).

3.625 mg Subst. (bei 100° i.V. über P_2O_5 getr.): 9.022 mg CO_2, 3.672 mg H_2O, Spur Asche.

$C_{18}H_{36}O_4$	Ber.	C	68.30	H	11.40
	Gef.		68.00		11.25

1) Bauer u. Hazura, Monatsh.f.Chem. 7, 5216 (1886). Hazura u.Grüßner, Monatsh.f.Chem. 10,242 (1889).
2) Saytzew, J.pr. (2) 335, 300 (1886).
+) Die Jodzahl-Bestimmungen wurden in freundlicher Weise von Herrn Dr.habil. H. T h a l e r im Institut für Pharmazeutische- und Lebensmittel-Chemie der Universität München ausgeführt, wofür auch an dieser Stelle herzlichst gedankt sei.

Da keine ätherunlöslichen Anteile vorhanden waren, ist die Anwesenheit von Linolsäure ausgeschlossen, die bei der Oxydation in Tetraoxystearinsäure übergegangen wäre und diese ist in Äther schwer löslich.

Stufe 6. Isolierung der hoch ungesättigten Fettsäuren.

Das in Stufe 4 erhaltene alkoholische Filtrat von Lithiumoleat wird unter Kohlensäure zur Trockne eingedampft. Die zurückbleibenden Schmieren werden unter Äther mit Säure zerlegt. Aus dem Äther erhält man 17 g ungesättigte Fettsäuren, Cholesterin und eventuell vorhandene Gallensäuren. Die braune Schmiere wird zuerst mit 100 ccm Petroläther und dann zweimal mit je 50 ccm Petroläther durchgeschüttelt. Es bleiben 3 g Petroläther-unlösliche Substanz zurück. Weiterbehandlung dieser Substanz in Stufe 7.

Die unter Kohlensäure eingedampfte Petrolätherlösung hinterlässt 14 g ungesättigte Fettsäuren und geringe Mengen mitgerissenen Cholesterins. Die Jodzahl beträgt 137.5 und 138.7. Zur Abtrennung von eventuell noch vorhandener Ölsäure wurde Gebrauch gemacht von der Schwerlöslichkeit des Bariumoleats in einer Mischung von 95 % Benzol und 5 % Äthanol (1). Das Fettsäuregemisch wird in Ammoniak gelöst und mit Bariumchlorid gefällt. Der hellbraune Niederschlag wiegt nach Trocknen 16 g. Das Bariumsalz wird mit 80 ccm Benzol-Alkohol-Gemisch unter Rückfluss gekocht, wobei fast alles in Lösung geht. Beim Stehen über Nacht scheiden sich aus der Lösung 2.7 g Bariumoleat ab. Die daraus gewonnenen 2.1 g Ölsäure hatten eine Jodzahl von 85.5 und 85.

Das Filtrat vom Bariumoleat wird unter Kohlensäure eingedampft. Die erhaltenen 13.3 g Bariumsalze der hoch ungesättigten Säuren werden mit Natriumcarbonatlösung gekocht und das Bariumcarbonat abfiltriert. Die klare Lösung wird unter Äther angesäuert und die ge-

---

1) Farnsteiner, Ztschr. Nahrungsm. 1, 390 (1898).

trocknete Ätherlösung der Fettsäuren zur Trockne eingedampft. Das erhaltene hellbraune Öl (11.8 g) wird in drei Teile geteilt:

1) Das Öl wird in ätherischer Lösung mit Diazomethan umgesetzt. Das erhaltene Reaktionsprodukt ergab, im Hochvakuum destilliert, folgende Fraktionen:

	Bad-Temp. °C	Destillations-Temp. °C	Ausbeute ccm	Jodzahl
I.	210-230	105-150	2.0	
II.	230-240	150-159	1.5	114.6 112.9
III.	240-260	159-130	1.0	112.7 114.0

Die Jodzahl-Bestimmung der drei Fraktionen ergab ungefähr den gleichen Wert Es war also auf diedem Weg keine Fraktionierung möglich. Bei weiterer Destillation über 260° Badtemperatur wurden geringe Mengen einer kristallisierten Substanz erhalten, die nach Umkristallisieren aus Alkohol einen Schmelzpunkt von 147° hatte. Auf Grund des Schmelzpunktes, der Liebermann'schen Reaktion, sowie der Analyse wurde sie sicher als Cholesterin erkannt.

2.783 mg Subst. (bei 100°i.V. getr.); Abnahme von 0.164 mg bei 2.947 mg Subst.): 8.415 mg CO_2, 2.420 mg H_2O, Rest 0.020 mg

$C_{27}H_{46}O$ Ber. C 83.86 H 11.99
Gef. 83.00 11.75

2) Oxydation nach H a z u r a . Genau wie bei der Ölsäure wurde ein Teil des erhaltenen Öls mit Kaliumpermanganat oxydiert. Es ließ sich kein kristallisiertes Produkt fassen. Da sich das Oxydationsprodukt der Linolsäure, die Tetraoxystearinsäure, leicht fassen lässt, scheidet die Linolsäure als anwesende ungesättigte Säure aus.

3) Bromierung nach H a z u r a . 2 g des Öls werden in 100 ccm Äther gelöst und auf -10° gekühlt. Während 15 Min. wird langsam eine auf -10° gekühlte 5 %ige Lösung von Brom in Äther zugetropft bis die Bromfarbe erhalten bleibt. Aus der klaren Lösung, die nach und nach wieder mit Bromlösung versetzt wird, sodass die Bromfarbe erhalten bleibt, scheidet sich nach 2 Stunden in geringer Menge ein weisser kristallisierter Niederschlag ab. Nach Filtration und Waschen mit Äther zeigt die Substanz einen Zersetzungspunkt von 226°.

3.417 mg Subst. (bei 100° i.V.; 0.068 mg Subst. verloren von 3.785 mg Subst.): 5.425 mg Br

$C_{20}H_{32}O_2Br_8$ Ber. Br 67.8 Gef. Br 67.7

Auf Grund des Analysenergebnisses und des Schmelzpunktes kann es sich nur um das Oktobromid der Arachidonsäure (1) handeln. Da bei der Bromierung in Petroläther weder eine Tetrabrom- noch eine Hexabromstearinsäure entsteht, scheinen Linol- und Linolensäure nicht anwesend zu sein.

Stufe 7. Isolierung der schwachen Gallensäuren.

In dem in Stufe 6 angefallenen Petroläther-unlöslichen Anteil (3 g) konnten möglicherweise noch „schwache Gallensäuren", d.h. Gallensäuren, deren Natriumsalze in wässriger Lösung phenolphthaleinalkalisch reagieren, vorhanden sein. Zu ihrer Isolierung wurde der von M e i s e r (2) und S e i b e r t (3) vorgeschlagene Weg beschritten, der auf der Nichtverseifbarkeit der Ester dieser schwachen Säuren beruht.

---

1) A.Hartley, J.of Physiol. 38, 367 (1909).
B.Suguki u. Y.Masuda, Imp.Acad.Tokyo 4, 165 (1928).
E.André u. H.Canal, Bull.Soc.Chim.France [4] 45, 498 (1929).
2) Meiser, Dissertation München 1930.
3) Seibert, Dissertation München 1939.

Der Petroläther-unlösliche Anteil wurde in Äther gelöst und mit Diazomethan verestert +). Nach einstündigem Stehen wurde die ätherische Lösung der Ester zur Entfernung nicht umgesetzter Säuren mit 10 ccm 2 n-Natronlauge durchgeschüttelt. Es wurden von der Natronlauge 0.01 g gelöst. Nach dem Verdampfen des Äthers hinterblieben 2.87 g flüssige Ester. Diese Ester wurden durch zweistündiges Kochen mit 1.8 g Kalilauge in 18 ccm Methanol verseift. Die Reaktionslösung wurde in 150 ccm Eiswasser eingegossen und dann 5-mal mit je 25 ccm Äther ausgezogen. Dabei müssten die nicht verseifbaren Ester der schwachen Gallensäuren in Lösung gehen. Aus der ätherischen Lösung wurden 0.04 g hellgelbe Substanz erhalten. Die Liebermann'sche Farbreaktion deutete auf Cholesterin hin, was auch nach Kristallisation aus Alkohol durch den Schmelzpunkt bewiesen wurde.

Demnach scheinen in der Gänsegalle keine schwachen Gallensäuren - Sapogeninsäuren - in isolierbaren Mengen vorhanden zu sein. Die alkalische Seifenlösung wird unter Äther angesäuert und man erhält nach Verdunsten des Äthers 2.77 g dunkel gefärbte Schmieren. Die Säuren werden mit Bariumchlorid in ammoniakalischer Lösung in das Bariumsalz übergeführt Dieses wird nach Trocknen mit Äthanol extrahiert Auf diese Weise kann man 0.5 g Gallenfarbstoff entfernen. Das Bariumsalz wird mit Natriumcarbonat in das Natriumsalz übergeführt und dieses wieder unter Äther mit Salzsäure zerlegt.

Die ätherische Lösung wird - wie anfangs beschrieben - wieder mit 25 %iger Salzsäure ausgeschüttelt

---

+) Späterhin hat sich als zweckmäßig erwiesen, die ätherische Lösung zuerst mit Natronlauge durchzuschütteln, wobei das Cholesterin in Äther zurückbleibt. Die Gallensäuren wurden dann wieder in Äther gebracht und dann verestert.

und zwar 10-mal mit je 10 ccm. Aus der salzsauren Lösung erhält man noch 0.47 g unreine Anthropodesoxycholsäure.

Zur weiteren Trennung der im Äther noch verbliebenen Gallensäuren wurde die Ausschüttelung der Säuren mit Lösungen verschiedener Alkalität versucht.

Tabelle 3.

Nr.	Lösungsmittel	Menge des Lösungsmittels	isolierte Substanz in g
1	2/5 n-$KHCO_3$	3 x je 10 ccm	0.34 fest
2	1/5 n-K_2CO_2	3 x je 10 ccm	1.36 flüssig
3	1/5 n-KOH	3 x je 10 ccm	0.06 flüssig
4	1 n-KOH	10 ccm	

Die Untersuchung der Fraktionen 1 und 4 ergab, dass sie fast ausschließlich aus Fettsäuren bestanden. Die einzelnen Anteile waren nahezu restlos in Petroläther löslich, was auf die Anwesenheit von Fettsäuren schließen ließ. Lithocholsäure ließ sich nicht isolieren.

Untersuchung der Truthahngalle

Aufarbeitungs-Schema (Erste Aufarbeitung)

(Stufe 1)
Truthahngalle
Verseifung

- Gallenfarbstoff (Ausbeute 6.8 g)
- (Stufe 2) Trioxygallensäuren extr. mit 15 %iger HCl (Ausbeute 0.20 g)
- (Stufe 3) Dioxygallensäuren extr. mit 25 %iger HCl (Ausbeute 7.6 g) Anthropodesoxycholsäure
- (Stufe 4) Monooxygallensäuren Mutterlauge (Ausbeute 27.7 g)
  - Krist. Palmitin-Stearinsäure (Ausbeute 1.2 g)

(Stufe 5)
Petroläther-unlösliche Bestandteile (Ausb. 1.6 g)

- Gallenfarbstoff (Ausbeute 0.4 g)
- Dioxygallensäure extr. mit 25 %iger HCl (Ausbeute 0.7 g) Anthropodesoxycholsäure
- Monooxygallensäure ätherische Mutterlauge (Ausbeute 0.5 g)
  - Natriumbicarbonat-Auszug (Ausbeute 0.25 g) Anthropodesoxycholsäure
  - Natronlauge-Auszug (Ausbeute 0.15 g)
  - Alkalischer Mutteräther (Ausbeute 0.05 g) Cholesterin

(Stufe 4)
Petroläther-lösliche Bestandteile (Ausb. 24.9 g)

- Unlösliches Bleisalz (Ausb. 14.3 g) Palmitin-Stearinsäure-Gemisch
- Lösliches Bleisalz (Ausb. 9.2 g) Ungesättigte Fettsäuren

Erste Aufarbeitung der Truthahngalle.

Der Gang der Aufarbeitung war im wesentlichen der gleiche wie bei der Gänsegalle.

Stufe 1. Verseifung der Gallensäuren und Abtrennung vom Farbstoff.

Zur Aufarbeitung gelangten 42.3 g trockene Gallensäureschmieren, die erhalten waren durch Verseifen der Gallenflüssigkeit mit Ätzkali +). Die Schmieren wurden in 2 n-NaOH gelöst und unter Äther angesäuert. Diese Operation wurde 4 mal mit je 50 ccm Äther wiederholt. Ausbeute an ätherunlöslichem Gallenfarbstoff 6.8 g, ätherlösliche Gallen- und Fettsäuren 35.5 g.

Stufe 2. Trennung der Gallensäuregruppen mit 15 %iger HCl.

Die erhaltenen 200 ccm ätherischer Gallensäurelösung werden 10 mal mit je 25 ccm 15 %iger äthergesättigter HCl ausgeschüttelt, wie bei Stufe 2 der Gänsegalleaufarbeitung näher ausgeführt. Aus dem Salzsäureextrakt werden 0.2 g Schmieren erhalten. Diese Substanz gab eine Liebermann'sche Reaktion, die weder für Cholsäure noch für Anthropodesoxycholsäure charakteristisch war (schwache gelb-braun Färbung). Die Pettenkofer'sche Reaktion zeigte aber die deutliche kirschrote Färbung der Cholsäure, die über Purpurrot nach Blaurot überging. Versuche, die Cholsäure aus Äther oder Alkohol zu kristallisieren. schlugen fehl.

Stufe 3. Ausschüttelung mit 25 %iger HCl und Aufarbeitung der erhaltenen Gallensäureschmieren.

Die ätherische Lösung, die vorher mit 15 %iger HCl extrahiert worden war, wurde wieder auf 200 ccm ge-

+) Die Firma Difco Laboratories Inc. Detroit, U.S.A. hat in liebenswürdiger Weise die Sammlung der Galle übernommen und die Verseifung durchgeführt. Ich bin ihr deshalb zu großem Dank verpflichtet.

bracht und 10 mal mit je 25 ccm 25 %iger HCl ausgeschüttelt. Aus dem salzsauren Extrakt wurden 7.6 g Gallensäureschmieren erhalten. Diese Schmieren wurden, wie bei der Gänsegalle beschrieben, über die kristallisierten Natrium- und Bariumsalze gereinigt und daraus die reine Anthropodesoxycholsäure erhalten. Ausbeute mehr als 90 % des Rohproduktes. Schmelzpunkt 105°.

Drehwert: E = 21.4 mg; 2 ccm Methanol; 2 dm-Rohr

$$\alpha = 0.33^\circ \quad [\alpha]_D^{23} = 15.4^\circ$$

4.086 mg Subst. (bei 90° i.V. getr.): 10.844 mg CO_2, 3.678 mg H_2O, 0.016 mg Asche.

$C_{24}H_{40}O_4$	Ber.	C	73.41	H	10.27
	Gef.		72.6		10.10

Stufe 4. Trennung der Bestandteile der ätherischen Mutterlauge.

Die ätherische Mutterlauge der HCl-Extraktionen wurde eingedampft, Ausbeute 27.7 g. Dabei kristallisierte ein Teil der Fettsäuren in langen federartigen Nadeln, die abfiltriert wurden. Ausbeute 1.2 g; Umkristallisiert aus Alkohol - Wasser zeigten sie den Schmelzpunkt 55-56° des Palmitin-Stearinsäure-Gemisches, keine Depression mit dem aus Gänsegalle erhaltenen Fettsäuregemisch.

4.120 mg Subst. (bei Zimmertemp. über P_2O_5 getr., keine Abnahme): 11.285 mg CO_2, 4.558 mg H_2O

$C_{17}H_{34}O_2$	Ber.	C	75.60	H	12.6
	Gef.		75.20		12.4

Der nicht kristallisierte Fettsäureanteil wurde mit Petroläther behandelt. Es blieben ungelöst 1.6 g;

Der in Petroläther lösliche Anteil betrug 24.9 g. Diese 24.9 g wurden in 460 ccm 96 %igem Äthanol ge-

löst und mit 23 g Bleiacetat in 35 ccm heißem Wasser gefällt. Die nach 24 Stunden abgesaugte Bleifällung wurde mit verd. HNO_3 zerlegt und die Fettsäuren in Äther gebracht. Ausbeute 13.6 g Palmitin-Stearinsäure-Gemisch, das aus Alkohol-Wasser umkristallisiert einen Schmelzpunkt von 55-56° zeigte. Die alkohollöslichen Bleisalze hinterließen nach Zerlegung mit HNO_3 unter Äther 8.8 g flüssige Fettsäuren.

Diese Säuren wurden in NaOH gelöst und mit $BaCl_2$ gefällt. 10 g der abgesaugten und scharf getrockneten Bariumsalze wurden dann mit 50 ccm eines Gemisches aus 95 % Benzol und 5 % Alkohol extrahiert. Dabei ging alles in Lösung. Da aus der abgekühlten Lösung sich kein Niederschlag abschied, war die Anwesenheit der Ölsäure in bestimmbaren Mengen auszuschließen, da Bariumoleat in obigem Gemisch unlöslich ist. Um ganz sicher zu gehen, dass keine Ölsäure vorhanden war, wurde die Benzol-Alkohol-Lösung der Bariumsalze zur Trockene gebracht. Der Rückstand war glatt in Äther löslich, woraus ebenfalls die Abwesenheit der Ölsäure folgte. Die ätherlöslichen Bariumsalze wurden mit H_2SO_4 zerlegt. Von den erhaltenen flüssigen Säuren wurde die Jodzahl nach Hanus bestimmt. Sie ergab einen Wert von 105.7 und 106.1. Bemerkenswert ist der niedrige Wert der Jodzahl bei der festgestellten Abwesenheit der Ölsäure.

Stufe 5. Aufarbeitung des in Petroläther unlöslichen Anteils der Fettsäuren.

Die bei der Extraktion der nicht kristallisierten Fettsäuren mit Petroläther zurückbleibenden 1.6 g Substanz wurden mit 100 ccm Äther behandelt. Dabei blieben ungelöst 0.4 g Gallenfarbstoff, sodass sich die Gesamtfarbstoffmenge auf 7.2 g erhöht. Die ätherische Lösung wurde dann noch 10 mal mit je 25 ccm 25 %iger HCl ausgeschüttelt. Auf diese Weise konnten nochmals 0.7 g rohe Anthropodesoxycholsäure gewonnen werden, sodass deren Gesamtmenge nunmehr auf 8.3 g

angestiegen ist. Im Mutteräther hinterblieben 0.5 g Substanz. Diese ätherische Lösung wurde dann zur weiteren Trennung eventuell noch vorhandener Gallensäuren 3 mal mit je 15 ccm n/5 Bicarbonat ausgeschüttelt. Aus der Bicarbonatlösung konnten 0.25 g Substanz isoliert werden, welche nach Reinigung über Natrium- und Bariumsalz als Anthropodesoxycholsäure erkannt wurde. Der endgültige Wert an gefundener Anthropodesoxycholsäure ist also jetzt 8.55 g. Die Mutterlauge der Ausschüttelung mit Bicarbonat wurde dann 2 mal mit je 15 ccm 1 n-KOH ausgeschüttelt. Aus der alkalischen Lösung wurden 0.15 g ölige, nach Fett riechende Substanz erhalten, die eine Liebermann'sche Reaktion gab, die zuerst purpurfarben war und über blaurot in braun überging. Auf Grund dieser Farbreaktion kann man schließen, dass entweder ein Gemisch von Anthropodesoxycholsäure mit Spuren von Cholesterin vorliegt, oder aber ein Gemisch dieser Säure mit Pflanzensterinen (schwache Gallensäuren).

Im Mutteräther blieben mit Alkali nicht extrahierbar 0.05 g zurück. Diese konnten nach Umkristallisieren aus wässerigem Alkohol als Cholesterin erkannt werden. Schmelzp. 144°. Die Liebermann'sche Reaktion war ganz charakteristisch rotviolett - violett - blauviolett - blau - blaugrün - grün.

Zweite Aufarbeitung der Truthahngalle.

Stufe 1. Verseifung der Gallen und Abtrennung vom Farbstoff.

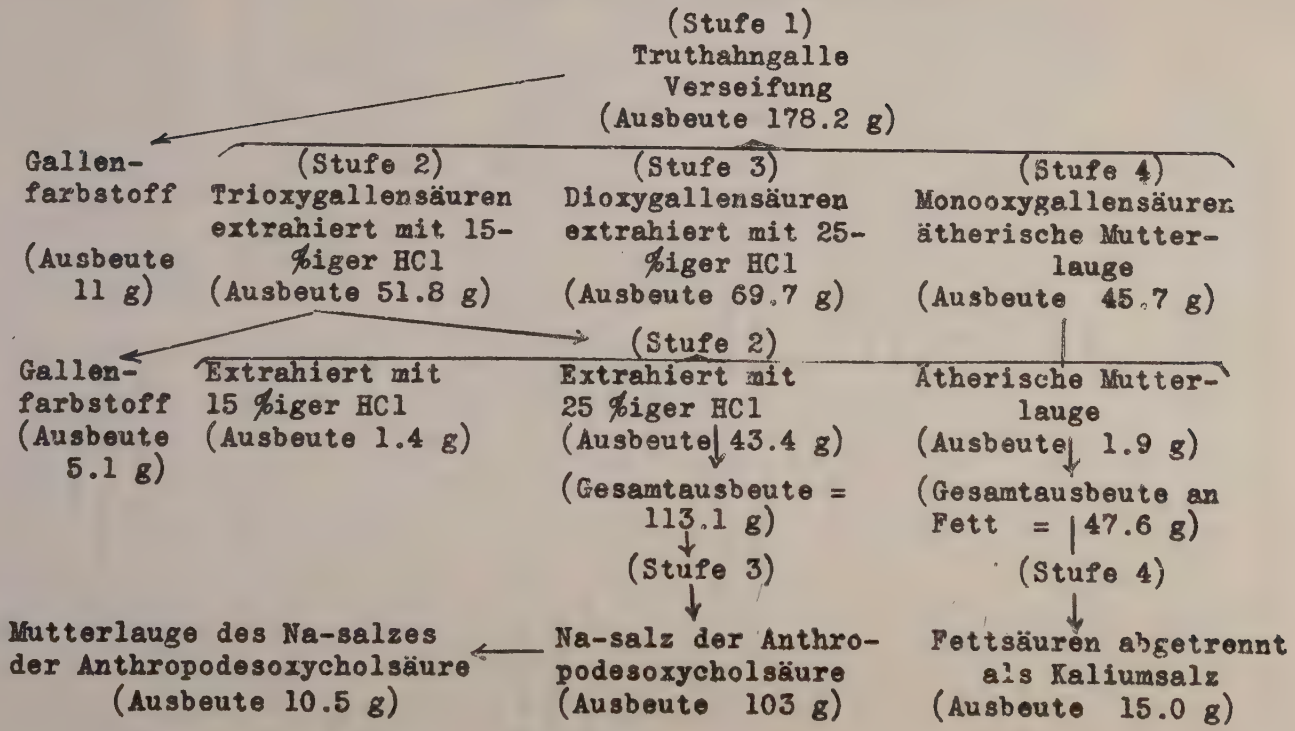
1700 ccm Gallenflüssigkeit - entsprechend etwa 1000 Truthahngallen +) - werden mit Ätzkali verseift und die Gallensäuren in Äther gebracht. Ausbeute an trockener Substanz 178.2 g. Ausbeute an ätherunlöslichem Farbstoff 11 g. Beim Ausschütteln der Gallensäuren mit HCl verschiedener Konzentration hat es sich bei diesem Aufarbeitungsgang als sehr unzweckmäßig herausgestellt, wenn man zu konzentrierte Lösungen verwendet. Das richtige Verhältnis ist etwa pro Gramm Gallensäureschmieren 20 ccm Äther.

Stufe 2. Trennung der Gallensäuren mit 15 %iger HCl.

Die ätherische Lösung der Gallensäuren (A) (1500 ccm) wurde 10 mal mit je 100 ccm 15 %iger HCl ausgeschüttelt. Bei den ersten Ausschüttelungen bildete sich in der wässerigen Phase eine Emulsion, die mit der HCl abgetrennt wurde. Aus den vereinigten salzsauren Lösungen konnten 51.8 g Schmieren isoliert werden. Diese 51.8 g werden sofort wieder in 1500 ccm Äther gelöst (B). Dabei blieben 5.1 g Farbstoff ungelöst. Der Farbstoffgehalt steigt somit auf 16.1 g an. Diese ätherische Lösung (B) wurde 10 mal mit je 100 ccm 15 %iger HCl ausgeschüttelt. Aus diesen salzsauren Lösungen konnten dann nur noch 1.4 g Gallensäureschmieren isoliert werden. Die ätherische Mutterlauge wurde anschließend an die Behandlung mit 15 %iger HCl 10 mal mit je 100 ccm 25 %iger HCl ausgeschüttelt. Aus diesen salzsauren Lösungen wurden dann 43.4 g Gallensäure-

+) Im Gegensatz zu den Gänsegallen, deren Gallenblasen immer straff gefüllt waren mit Gallenflüssigkeit (5-15 ccm), waren die Truthahngallenblasen immer nur ganz wenig gefüllt. Die größte Menge Flüssigkeit aus einer Gallenblase betrug 5 ccm, meist jedoch nicht mehr als 1.5 bis 2 ccm.

Zweites Aufarbeitungs-Schema



Prüfung auf Desoxycholsäure — Anthropodesoxycholsäure — Palmitin-Stearinsäure-Gemisch

Fettsäuren abgetrennt als Lithiumsalz (Ausbeute 10.8 g)

↓

Alkohol-lösliches Lithiumsalz

in Äther löslich (Ausbeute 3.5 g) — Cholesterin

in Wasser löslich (HCl)

Petroläther-löslich (Ausbeute 15.3 g)

Petroläther unlöslich (Ausbeute 3.0 g)

Hochungesättigte Fettsäuren

Extrahiert mit 15-%iger HCl (Ausbeute 0.2 g) — Cholsäure

Extrahiert mit 25-%iger HCl (Ausbeute 2.3 g) — Anthropodesoxycholsäure

Ätherische Mutterlauge (Ausbeute 0.4 g)

schmieren erhalten, die sich später als rohe Anthropodesoxycholsäure erwiesen. In der ätherischen Mutterlauge bleiben 1.9 g Fettsäuren.

Die beim Ausschütteln mit 15 %iger Salzsäure erhaltenen Schmieren (1.4 g) gaben eine tief gelborange Liebermann'sche Reaktion, die sehr ähnlich der der Cholsäure war. Die Schmieren wurden aus abs. Alkohol 2 mal umkristallisiert. Der Schmelzpunkt der kristallisierten Substanz stieg von 190° auf 193°. Ein Mischschmelzpunkt mit reiner Cholsäure (196°) lag bei 195°.

3.687 mg Subst. (bei 100° i.V.getr.; Abnahme von 0.440 mg bei 4.130 mg Subst.): 9.380 mg CO_2, 3.239 mg H_2O

$C_{24}H_{40}O_5$	Ber.	C	70.60	H	9.80
	Gef.		70.79		9.82

Drehwert:

E = 22.3 mg; 2 ccm Methanol; 1-dm-Rohr

α = + 0.34° $\quad [\alpha]_D^{23}$ = 30.5°

Demnach handelt es sich dabei um reine Cholsäure.

Stufe 3. Ausschüttelung mit 25 %iger HCl.

Die ätherische Mutterlauge der Gallensäuren (A) wurde 10 mal mit je 100 ccm 25 %iger HCl ausgeschüttelt. Es konnten aus der Lösung 69.7 g Gallensäuren isoliert werden. Nachdem aus der ätherischen Lösung (B) bereits 43.4 g rohe Anthropodesoxycholsäure isoliert worden war, beträgt somit die Gesamtausbeute der in 25 %iger HCl löslichen Gallensäuren 113.1 g. Diese rohen Säuren wurden in abs. Alkohol gelöst und mit Natriumäthylat als kristallisierte Natriumsalze gefällt. Ausbeute 103 g. Die weitere Reinigung bis zur Anthropodesoxycholsäure wurde dann über das Bariumsalz ausgeführt.

Zur Prüfung auf Desoxycholsäure wurde die alkoholische Mutterlauge des Natriumsalzes (ca. 10 g) der Anthropodesoxycholsäure zur Trockene gebracht. Der Rückstand wurde nach folgender Methode auf Desoxycholsäure geprüft: Aus der Anthropodesoxycholsäure lässt sich nach der Methode von Y a m a s a k i und T a k a h a s h i (1) leicht Wasser abspalten. Dabei entsteht aus ihr eine Mono-oxysäure, die sich nach den bisherigen Erfahrungen nicht mit 25 %iger HCl ausschütteln lässt, während die unveränderte Desoxycholsäure sich noch mit 25 %iger HCl ausschütteln lassen muss. Es wurde also das rohe Säuregemisch mit HCl in Eisessig behandelt und nach beendeter Wasserabspaltung mit 25 %iger HCl aus Äther ausgeschüttelt. Aus der salzsauren Lösung ließen sich nur noch 0.4 g Gallensäuren isolieren. Diese gaben aber nicht die grüne Farbe der Benzaldehydprobe auf Desoxycholsäure (2), sodass diese nicht sicher nachzuweisen war. Trotzdem wurde eine Trennung dieser isolierten Gallensäuren versucht. Die erhaltenen 0.4 g rohe Gallensäuren wurden in heissem Ammoniak gelöst und heiß mit Bariumchlorid gefällt. Das sich in der Hitze ausscheidende schmierige Bariumsalz wurde abfiltriert und in die freie Säure überführt. Von dieser getrockneten Säure wurde eine Drehwertsbestimmung ausgeführt:

E = 9.7 mg; 1 ccm Methanol; 2 dm-Rohr

α = + 0.12° $\quad [\alpha]_D$ = + 24.8°

Da die Substanz nicht 100 %ig rein war, kann die Säure nicht einwandfrei erkannt werden.

Die Mutterlauge des schmierigen Bariumsalzes wurde angesäuert und dann mit Äther ausgeschüttelt. Aus dem Äther konnte eine geringe Menge einer Gallensäure isoliert werden, deren spezifische Drehung $[\alpha]_D^{23}$ = 17.6° war.

---

1) H. 256, 21-27 (1938).
2) Shimada, Journ. Biochem. Japan, 28, 169 (1937); 29, 41 (1938).

E = 25.0 mg; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr

α = + 0.22° $[\alpha]_D^{23}$ = 17.6°

Reine Anthropodesoxycholsäure hat eine spezifische Drehung $[\alpha]_D$ = 14.9°.

Es handelte sich bei der aus dem Äther isolierten Gallensäure offensichtlich um nicht ganz reine, bei der Wasserabspaltung nicht umgesetzte Anthropodesoxycholsäure.

Da die Desoxycholsäure eine spezifische Drehung $[\alpha]_D$ = + 57.02 hat (1), ist auch auf Grund dieser Tatsache die Anwesenheit von Desoxycholsäure auszuschließen.

Stufe 4. Aufarbeitung der fettsäurehaltigen ätherischen Mutterlaugen.

Die ätherischen Mutterlaugen A + B, die nach Ausschüttelung mit 25 %iger HCl verblieben waren, wurden zur Trockene gebracht. Gesamtausbeute 45.7 g und 1.9 g Fettsäuren. Diese wurden in 470 ccm Äthanol gelöst und mit 15 g Ätzkali, gelöst in 70 ccm Methanol, versetzt. Nach Stehen schieden sich 15.9 g Kalisalze aus. Diese Kaliumsalze wurden nach Zersetzen mit Säure in die freien Fettsäuren überführt mit einem Schmelzpunkt 54-56°. Dieses Säuregemisch gibt keine nennenswerte Depression mit dem Palmitin-Stearinsäure-Gemisch aus Gänsegalle. Das alkoholische Filtrat der Kalisalze wurde dann mit einer Lösung von 7 g Lithiumchlorid in 210 ccm Methanol versetzt. Es schieden sich 11.2 g Lithiumsalze aus. Aus der ätherischen Lösung der zersetzten Lithiumsalze schied sich eine fächerartig kristallisierte Substanz ab, Schmp. 50°- 55°, deren Schmelzpunkt nach dreimaligem Umkristallisieren auf 57°- 58° stieg.

---

1) H. Lettré, Sterine und Gallensäuren, S.57 (1936).

Auf Grund der Eigenschaften und der Analyse konnte Palmitinsäure eindeutig erkannt werden.

4.033 mg Subst.: 11.059 mg CO_2, 4.462 mg H_2O

$C_{16}H_{32}O_2$ (256) Ber. C 75.00 H 12.50
Gef. 74.60 12.37

Die alkoholische Mutterlauge der Lithiumsalze wurde zur Trockene gebracht und der Rückstand mit Äther behandelt. Dabei ging nur das Cholesterin in Lösung. Ausbeute 3.5 g. Schmelzpunkt 144-145°. Liebermann'sche Reaktion war positiv.

4.042 mg Subst.: 12.442 mg CO_2, 4.350 mg H_2O

$C_{27}H_{46}O$ Ber. C 83.86 H 11.99
Gef. 84.00 12.10

Drehwert:

E = 24.0 mg; 2 ccm Methanol; 2 dm-Rohr

$\alpha = -0.82^\circ$ $[\alpha]_D^{23} = -34.2^\circ$

Der Rückstand der Ätherextraktion wurde in Wasser gelöst und mit Säure unter Petroläther zersetzt. In Petroläther löslich waren die hochungesättigten Fettsäuren. Ausbeute 15.3 g. Im Anschluss an die Petrolätherausschüttelung wurde die wässerige Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Aus dem Äther wurden 3.0 g Substanz isoliert. Die Petrolätherlösung der hochungesättigten Säuren wurde unter Stickstoff eingedampft. Das zurückbleibende Öl wurde im Hochvakuum (0.001 mm) bei 280° destilliert. Die Bestimmung der Jodzahl des Destillats nach Hanus ergab den Wert 147.1.

6 g des Öls wurden in 30 ccm abs. Äther gelöst und auf - 5° gekühlt; dazu wurde eine ebenso gekühlte 10 %ige ätherische Bromlösung zugetropft. Es schied sich ein weißer Niederschlag aus, der sich an der Luft leicht bräunte. Ausbeute 0.51 g. Zersetzung ab 220°.

Brombestimmung.

3.150 mg Subst.: 4.985 mg AgBr

$C_{20}H_{32}O_2Br_8$ (944) Ber. Br 67.8
Gef. 67.34

Demnach könnte es sich um das Oktobromid der Arachidonsäure handeln.

Das ätherische Filtrat des kristallisierten Bromids wurde zur Trockene gebracht und dann mit 100 ccm Petroläther erwärmt. Dabei ging die Substanz quantitativ in Lösung. Beim Erkalten kristallisierte aus der Lösung in schönen Prismen ein Bromid. Ausbeute 2.1 g. Umkristallisiert aus Äther-Petroläther zeigte das Tetrabromid einen Schmelzpunkt von 114-115°.

Brombestimmung.

3.575 mg, 3.715 mg Subst.: 4.410 mg, 4.660 mg AgBr; 53.44, 53.38 mg Br

$C_{18}H_{32}O_2Br_4$ (600) Ber. Br 53.33
Gef 53.38; 53.44

Diese Substanz ist Tetrabromstearinsäure und es ist anzunehmen, dass das Ausgangsprodukt Linolsäure enthalten hat.

Der in Petroläther unlösliche Anteil der Fettsäuren (3 g, siehe oben) wurde in Äther gelöst und zuerst mit 15 %iger HCl extrahiert. Aus der salzsauren Lösung wurden 0.2 g Substanz isoliert, die sich durch die Liebermann'sche Reaktion als Cholsäure zu erkennen gab. Bei der Extraktion mit 25 %iger HCl wurden 2.3 g Schmieren isoliert. Diese wurden nach Reinigung über die Natrium- und Bariumsalze als Anthropodesoxycholsäure identifiziert.

Aus der ätherischen Mutterlauge konnten noch 0.4 g flüssige Substanz isoliert werden, die in Petroläther unlöslich war. Sie wurde mit Ammoniak in das

Ammoniumsalz übergeführt, das in Äther unlöslich war. Das Ammoniumsalz wurde dann wieder mit Säure zersetzt und mit Äther ausgezogen. Nach Abdampfen des Äthers hinterblieben 5 mg wachsartige Substanz. 1 mg wurde in 2 ccm Methanol gelöst und dann ein Drehwert bestimmt.

E = 1.0 mg; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr

$\alpha = 0.14^{\circ}$ $\quad [\alpha]_D^{23} = 280 \pm 30^{\circ}$

Auf Grund der geringen Substanzmenge kann nur mit einer Genauigkeit von 20 % gerechnet werden.

Die Liebermann'sche Reaktion ist gelb bis gelbbraun. Die Anwesenheit von Anthropodesoxycholsäure war vollständig auszuschließen.

Untersuchung der Entengalle

Aufarbeitungs-Schema

(Stufe 1)

Entengalle
Verseifung

Gallenfarbstoff	(Stufe 2) Trioxygallensäuren extrahiert mit 15-%iger HCl	(Stufe 3) Dioxygallensäuren extrahiert mit 25-%iger HCl	(Stufe 4) Monooxygallensäuren ätherische Mutterlauge
(Ausbeute 1.57 g)	(Ausb. 0.17 g)	(Ausb. 6.82 g)	(Ausb. 2.43 g)
		Anthropodesoxycholsäure	

Fettsäuren abgetrennt
als Kaliumsalz
(Ausbeute 0.34 g)

Palmitin-Stearinsäure-Gemisch

Fettsäuren abgetrennt
als Lithiumsalz
(Ausbeute 0.75 g)

Äther-lösliche Bestandteile	Petroläther-lösliche Bestandteile	Petroläther-unlösliche Bestandteile
(Ausbeute 0 05g)	(Ausbeute 0.50 g)	(Ausbeute 0.68 g)
Cholesterin	Hochungesättigte Fettsäuren	Gallensäuren

Untersuchung der Entengalle.

Stufe 1. Verseifung der Galle und Abtrennung vom Farbstoff.

Der Inhalt von 280 Gallenblasen ergab nach Verseifung mit Ätzkali 10.9 g trockene rohe Gallensäuren. Diese Gallensäuren wurden in 2 n-NaOH gelöst, unter Äther mit HCl ausgefällt und in Äther gebracht. Ausbeute an Gallenfarbstoff 1.57 g, ätherlösliche Gallen- und Fettsäuren 9.33 g.

Stufe 2. Trennung der Gallensäuren mit 15-%iger HCl.

Nachdem bei der Truthahngalle die Erfahrung gemacht worden war, dass aus der zu konzentrierten ätherischen Gallensäurelösung mit 15 %iger HCl ein großer Teil der Anthropodesoxycholsäure ausgeschüttelt werden konnte, wurden jetzt die Gallensäuren in der 20 fachen Gewichtsmenge Äther gelöst. Diese Konzentration hat sich als besonders günstig erwiesen.

Die 250 ccm betragende Ätherlösung wurde 10 mal mit je 20 ccm 15 %iger HCl - mit Äther gesättigt - ausgeschüttelt. Aus der salzsauren Lösung konnten 0.17 g Gallensäuren isoliert werden. Diese Gallensäuren zeigten keine positive Pettenkofer'sche Reaktion auf Cholsäure (braun statt blau). Auch auf Grund der Liebermann'schen Reaktion konnte keine Cholsäure erkannt werden, da geringe Mengen der mitgerissenen Anthropodesoxycholsäure die Farbreaktion überdeckten.

Drehwert:

E = 25.2 mg Subst.; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr

α = + 0.30° $\quad [\alpha]_D^{20}$ = + 23.8°

Stufe 3. Abtrennung der Gallensäuren mit 25 %iger HCl.

Die ätherische Mutterlauge, die vorher mit 15-%iger HCl ausgeschüttelt war, wurde wieder auf 250 ccm gebracht und dann 12 mal mit je 20 ccm 25-%iger HCl - mit Äther gesättigt - ausgeschüttelt. Aus der salzsauren Lösung konnten 6.82 g Gallensäuren isoliert werden. Die Reinigung dieser rohen Gallensäuren wurde - wie bei der Gänsegalle beschrieben - über die kristallisierten Natrium- und Bariumsalze durchgeführt. Es konnten auf diese Weise 4.9 g reine Anthropodesoxycholsäure isoliert werden. Schmelzpunkt 104°. Liebermann'sche Probe war charakteristisch für Anthropodesoxycholsäure.

4.555 mg Subst. (bei 50°C über P_2O_5 getr. bis konst.Gew.): 12.111 mg CO_2, 4.091 mg H_2O

$C_{24}H_{40}O_4$ +) Ber. C 73.41 H 10.27
Gef. 72.51 10.05

Drehwert:

104.4 mg Subst.; 5 ccm Methanol; 2 dm-Rohr

$\alpha = + 0.62^\circ$ $[\alpha]_D^{22} = + 14.8^\circ$

Stufe 4. Trennung der in Äther verbleibenden Bestandteile.

Der Rückstand der ätherischen Mutterlaugen betrug nach Extraktion mit 15 und mit 25 %iger HCl 2.34 g. Dieses Rohprodukt wurde in 24 ccm Äthanol gelöst und mit einer Lösung von 0.72 g KOH in 3.6 ccm Methanol versetzt. Ausbeute an kristallisiertem Kaliumsalz

---

+) Diese Substanz hat stark schwankende Analysenwerte; der angegebene Wert ist der beste, der erhalten werden konnte, obwohl die Substanz mit allen Vorsichtsmaßregeln getrocknet worden war. Da auf Grund des Drehwertes Anthropodesoxycholsäure in reiner Form vorzuliegen schein, bedarf diese Substanz einer Nachprüfung.

0.34 g. Aus dem zersetzten Kaliumsalz konnten die freien Fettsäuren isoliert werden, die nach Umkristallisieren aus Alkohol-Wasser einen Schmelzpunkt von 55-57° zeigten. Mischschmelzpunkt mit dem Palmitin-Stearinsäure-Gemisch aus Gänsegalle ergab keine Depression.

3.868 mg Subst. (bei Zimmertemp. über P_2O_5 getr. keine Abnahme): 10.614 mg CO_2, 4.241 mg H_2O; keine Asche.

$C_{17}H_{34}O_2$	Ber.	C	75.60	H	12.60
	Gef.		75.00		12.20

Zu dem Filtrat der Kaliumsalze wurden 0.3 g Lithiumchlorid in 9 ccm Methanol zugefügt. Es kristallisierten 0.75 g Lithiumsalze aus. Die aus diesem Salz gewonnenen freien Fettsäuren zeigten die gleichen Eigenschaften wie die aus Truthahngalle gewonnenen. Es war keine Ölsäure, sondern eine feste kristallisierte Fettsäure mit dem Schmelzpunkt 55-57°.

4.324 mg Subst. (bei Zimmertemp. über P_2O_5 getr.; keine Abnahme): 11.875 mg CO_2, 4.814 mg H_2O

$C_{16}H_{32}O_2$ (Palmitinsäure) (256)

	Ber.	C	75.0	H	12.5
	Gef.		74.9		12.4

Das alkoholische Filtrat der Lithiumsalze wurde zur Trockene gebracht. Der Rückstand wurde mit Äther behandelt, in dem sich Cholesterin löste und in den für Cholesterin typischen, dünnen rhombischen Tafeln auskristallisierten. Schmelzpunkt 144-146°. Ausbeute 50 mg.

Drehwert:

E = 10 mg; 2 ccm Methanol; 2 dm-Rohr

$\alpha = -0.03°$ $\quad [\alpha]_D^{23} = -30.0°$

Das zurückbleibende Gemisch von Kalium- und Lithiumsalzen wurde mit HCl zersetzt und mit Petroläther ausgezogen. Aus dem Petroläther wurden 0.5 g flüssige Fettsäuren isoliert.

Jodzahl nach Hanus: 58.4

Der in Petroläther unlösliche Anteil wurde in Äther aufgenommen. Aus dem Äther wurden noch 0.68 mg Substanz isoliert. Diese Substanz gab eine Liebermann'sche Reaktion, die frei war von Cholesterin, aber Anthropodesoxycholsäure in unreiner Form anzeigte.

Drehwert:

E = 21.6 mg; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr

α = 0.19° $\quad [\alpha]_D^{23}$ = + 17.6°

Da aber reine Anthropodesoxycholsäure eine spezifische Drehung $[\alpha]_D$ = + 14.8° zeigt, die hier gefundene Drehung aber + 17.6° ist, kann man annehmen, dass die Anthropodesoxycholsäure könnte gemischt sein mit der in dieser Fraktion vorkommenden Lithocholsäure mit einer spezifischen Drehung $[\alpha]_D$ = + 23.33°. Die Lithocholsäure konnte allerdings nicht isoliert sein. Auszuschließen ist aber auch nicht die in der Hühnergalle bereits aufgefundene Isolithocholsäure (1) mit einer spezifischen Drehung $[\alpha]_D$ = + 94.30°.

---

(1) Hosizima u. Mitarbeiter, Journ.Biochem. Japan XII, 393-397 (1931).

Zusammensetzung der Gallen

	Gänse		Truthahn I		Truthahn II		Ente	
	Gramm	%	Gramm	%	Gramm	%	Gramm	%
Farbstoff	48.9	30	7.29	17	16.1	9	1.57	14.4
rohe Cholsäure			0.29	0.48	1.6	0.9		
mit 15 %iger HCl extrahierbare Gallensäuren (keine Cholsäure)							0.17	1.6
rohe Anthropodesoxycholsäure	78	48	8.6	20.3	115.4	64.7	6.82	62.6
Palmitin-Stearinsäure-Gemisch	7	4.5	14.3	33.8	25.8	14.5	0.64	5.9
Ölsäure	9	5.5						
hochungesättigte Fettsäuren	16	10	9.2	21.8	15.3	8.6	0.5	4.4
mit 25 %iger HCl nicht extrahierbare Gallensäurebestandteile ...							0.68	6.2
Cholesterin	1	0.5	0.05	0.12	3.5	2.0	0.05	0.5
Rest	3	1.5	2.75	6.5	0.5	0.3	0.47	4.3
	162	100	42.3	100	178.2	100	10.9	100

II. Über die von der Anthropodesoxycholsäure sich ableitenden ungesättigten Säuren

Mit Kriegsausbruch habe ich die Arbeiten im Laboratorium der Universität München abgeschlossen und in Amerika zu Ende geführt. Herr Professor Dr. Werner E. B a c h m a n n , Universität Michigan, hat mir in liebenswürdiger Weise einen Arbeitsplatz in seinem Laboratorium zur Verfügung gestellt und mich in meiner Arbeit durch wertvolle Ratschläge unterstützt. Ich möchte Herrn Professor B a c h - m a n n an dieser Stelle nochmals herzlich danken.

Theoretischer Teil.

Zweck der vorliegenden Arbeit ist, die Lage der Doppelbindung in der Säure näher zu untersuchen, die durch Behandlung der Anthropodesoxycholsäure mit wasserentziehenden Mitteln entstanden ist. In Analogie zur Ergosterin-Reihe und zur Cholsäure-Reihe wäre zu erwarten, dass bei der Wasserabspaltung aus der Anthropodesoxycholsäure drei isomere einfach ungesättigte Säuren entstehen würden. Wirklich wurden auch im Verlauf vorliegender Arbeit mit Sicherheit drei, vielleicht sogar vier Isomere aufgefunden, wobei ich das vierte Isomere für ein Stereoisomeres halte. Zum besseren Verständnis sollen im folgenden die Isomerie-Verhältnisse in der Ergosterin- sowie in der Cholsäure-Reihe kurz gestreift werden.

Ergosterin-Reihe.

Zur Darstellung der drei Isomeren Ergostenole (α, β, γ) ging W i n d a u s (1) vom 22-Dihydroergosterin aus, das er auf folgendem Weg herstellte. Um nur die Doppelbindung in der Seitenkette mit Wasserstoff abzusättigen, schützte er das konjugierte System in Ring B durch Addition von Maleinsäureanhydrid, welches nach erfolgter Hydrierung wieder abgespalten wurde. Das so entstandene 22-Dihydroergosterin, dessen konjugiertes System mit ziemlicher Sicherheit zwischen C_5 und C_8 liegt, gibt bei der Hydrierung mit Natrium und Propanol ein γ-Ergostenol. Es ist anzunehmen, dass das konjugierte System den Wasserstoff in C_5-C_6-Stellung anlagert und ein bei C_7-C_8 ungesättigtes System zurückbleibt. Das γ-Ergostenol geht beim Schütteln mit Pt- oder Pd-Mohr quantitativ in α-Ergostenol über, dessen

---

1) Windaus u. Langer, A. 508, 106-114 (1933).

Doppelbindung zwischen ditertiären C-Atomen liegen muss, da sie nicht mehr hydrierbar ist. Für die Lage der Doppelbindung kommt die Stellung C_8-C_9 oder C_8-C_{14} in Frage; auf Grund der Entstehung des ß-Ergostenols ist die Lage C_8-C_{14} zu bevorzugen. Mit HCl wird nämlich das γ-Ergostenol in ein Gemisch von Isomeren verwandelt, aus dem ß-Ergostenol mit Sicherheit isoliert wurde (1). Der eindeutige Beweis für die C_{14}-C_{15}-Lage der Doppelbindung im ß-Ergostenol wurde durch A c h t e r m a n n (2) und F. L a u c h t (3) folgendermaßen erbracht.

A c h t e r m a n n ozonisierte das ß-Ergostenol-Acetat und erhielt nach Zersetzung des Ozonids einen Ketonaldehyd, der bei der Destillation im Hochvakuum unter Abspaltung eine α-ß-ungesättigten Aldehyds $C_{12}H_{22}O$ in einen Ketonalkohol von der Formel $C_{16}H_{26}O_2$ übergeht. L a u c h t dehydrierte den Ketonalkohol mit Selen und erhielt 2-Methyl-phenanthren. Durch diesen Beweis der C_{14}-C_{15}-Lage der Doppelbindung im ß-Ergostenol kann dieses bei seinem Entstehen durch Isomerisation von γ-Ergostenol nur über den Umweg über α-Ergostenol entstanden sein, so entsteht das ß-Isomere auch durch direkte Behandlung von α-Ergostenol mit HCl (4). Für die Lage der Doppelbindung im α-Ergostenol kommt also nur die C_8-C_{14}-Lage in Frage, unter der Voraussetzung, dass Verschiebungen der Doppelbindung durch Isomerisation stetig vor sich gehen und nicht durch große Sprünge innerhalb des Moleküls.

Die Übergänge von 22-Dihydroergosterin in seine Isomeren durch Wasserentzug, sowie die Rückführung

---

1) Heilbron u. Wilkinson, Soc. 1932, 1708.
2) Achtermann, H. 225, 141 (1934).
3) F. Laucht, H. 225, 141 (1934).
4) Heilbron u. Wilkinson, Soc. 1932, 1708.

der drei Isomeren in Dehydroergostenol einerseits, wie auch die Übergänge der drei Isomeren untereinander andererseits wird am besten durch die Tabelle von Morrison und Simpson (1), die entsprechend erweitert wurde, klargestellt (siehe Seite 52).

zu Seite 52: Ergosterin-Reihe

a) Heilbron u. Seyton, Soc. 924 (1929)
b) Reindel u. E. Walter, A. 460, 214 (1928)
c) Windaus u. Langer, A. 508, 105 (1933)
d) Reindel, E. Walter u. Rauch, A. 452, 34 (1927)
e) Heilbron u. Wilkinson, Soc. 1932, 1708
f) Windaus u. Lüttringhaus, A. 481, 119 (1930)
g) Morrison u. Simpson, Soc. 1710 (1932)
h) Callow, Soc. 1936, 462

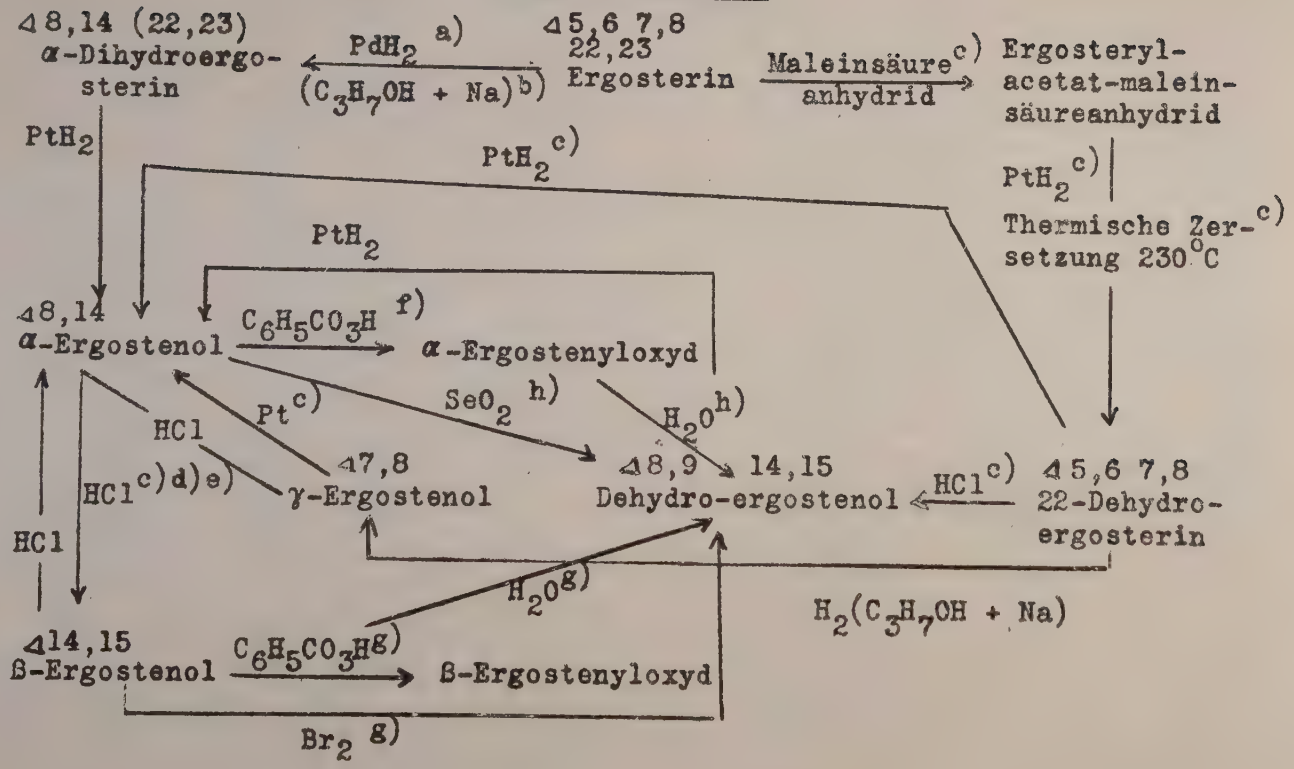
Cholsäure-Reihe.

Boedecker (2) konnte bei der Behandlung der Cholsäure mit wasserabspaltenden Mitteln die Apocholsäure erhalten. In einer späteren Nacharbeitung konnte Boedecker (3) das Auftreten eines Isomeren der Apocholsäure, der Dioxycholensäure, feststellen. Die Apocholsäure selber nimmt keinen katalytischen Wasserstoff auf, während die Dioxycholensäure hydrierbar ist (4) zu Desoxycholsäure. Beim Behandeln der Dioxycholensäure mit Chromsäure erhielten Wieland und Dane (5) eine Diketotetracarbonsäure, wodurch bewiesen war, dass die Doppelbindung

---

1) Morrison u. Simpson, Soc. 1932, 1710-1714.
2) Boedecker, B. 53, 1853 (1920).
3) Boedecker, B. 54, 2489 (1921).
4) B. 55, 2302 (1922).
5) H.Wieland u. Dane, H. 206, 243; 212, 263 (1932).

Ergosterin-Reihe



zwischen einem tertiären und einem sekundären C-Atom lag. W i e l a n d schlägt für die Lage der Doppelbindung C_7-C_8 vor, während C a l l o w (1) ausserdem eine Formel mit einer C_{14}-C_{15}-Lage der Doppelbindung zur Diskussion stellt. Ich halte eine C_7-C_8-Lage der Doppelbindung für wahrscheinlicher, da die von C a l l o w vorgeschlagene Lage immerhin mit einem großen Sprung der Doppelbindung innerhalb des Moleküls verbunden wäre. Einen eindeutigen Beweis für die C_{14}-C_{15}-Lage der Doppelbindung würde ein Abbau nach A c h t e r m a n n und L a u c h t (2) erbracht haben. Die Resistenz gegen katalytischen Wasserstoff bei der Apocholsäure dürfte ihren Grund in der Lage der Doppelbindung zwischen zwei tertiären C-Atomen haben. Zwei Möglichkeiten für die Lage der Doppelbindung in der Apocholsäure kommen hiernach in Frage: erstens zwischen C_8-C_9 und zweitens zwischen C_8-C_{14}. Y a m a s a k i (3) konnte durch Einwirkenlassen von gasförmiger HCl sowohl auf Apocholsäure als auch auf Dioxycholensäure eine dritte isomere Säure isolieren, die Isodioxycholensäure. Ähnlich wie die Apocholsäure lässt sich auch die Isodioxycholsäure nicht hydrieren, folglich kommen für die Lage der Doppelbindung in der Isodioxycholensäure die gleichen Möglichkeiten in Frage wie für die Apocholsäure, nämlich zwischen C_8-C_9 oder zwischen C_8-C_{14}. Ähnlich wie die drei Ergosterin-Isomeren wahrscheinlich so zusammenhängen, dass sie durch Verschiebung der Doppelbindung von Ring B nach Ring C und schließlich nach Ring D ineinander übergehen und zwar über folgende Lagen der Doppelbindung: in Ring B C_7-C_8, in Ring C C_8-C_{14} und in Ring D C_{14}-C_{15} und weiterhin α-Ergostenol sowie ß-Ergostenol bei der Dehydrierung

---

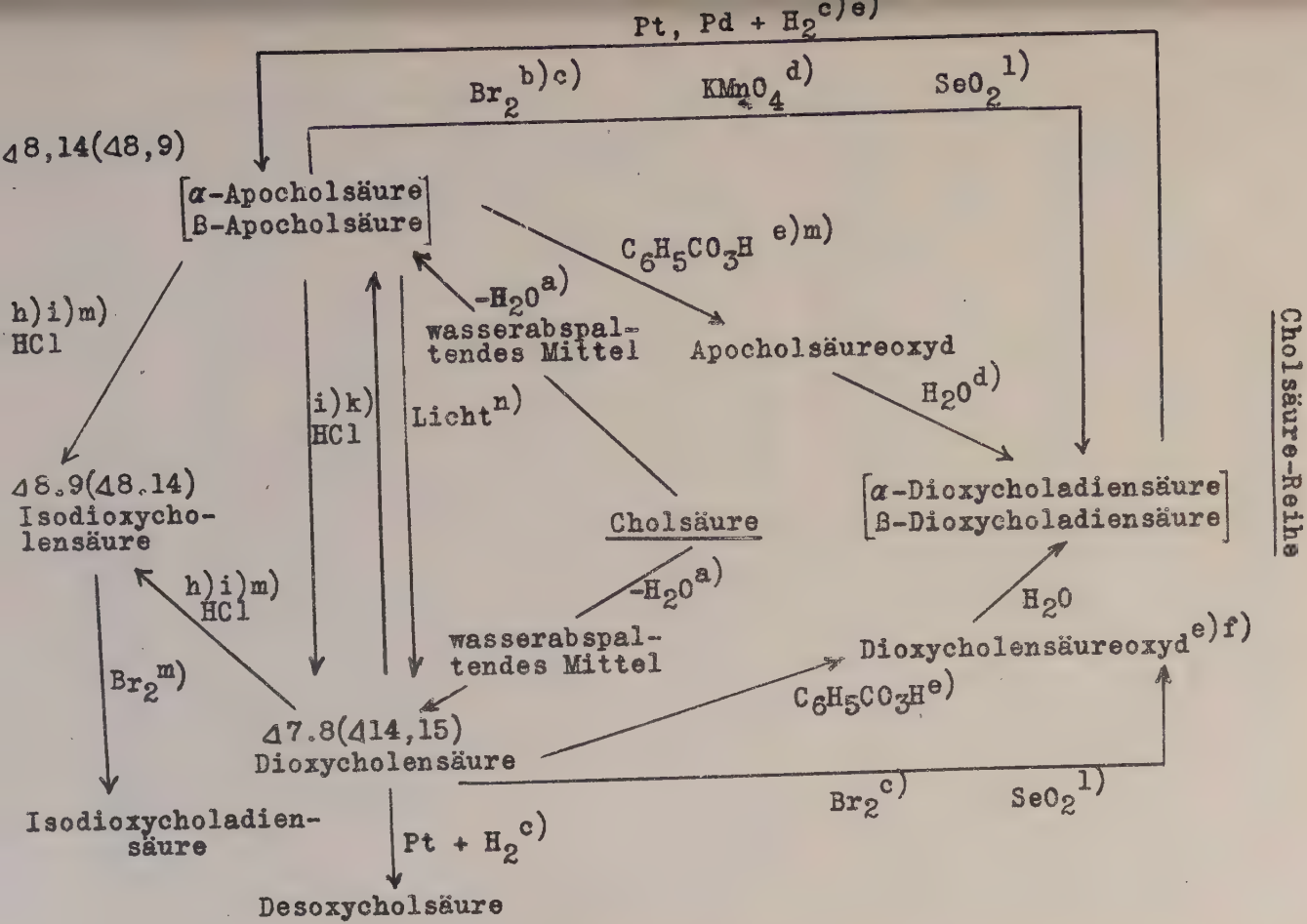
1) Callow, Chem.Soc. 1936, 462.
2) Achtermann u. Laucht, H. 225, 141 (1934).
3) Yamasaki, H. 233, 10 (1935).

ein und dasselbe Dien, das Dehydroergostenol, ergeben, bekommt man bei der Dehydrierung von Apocholsäure und Dioxycholensäure zwei stereoisomere Cholensäuren. Auf Grund dieser Ähnlichkeiten ist anzunehmen, dass die Doppelbindung in der Apocholsäure gleich liegt wie im α-Ergostenol, für die Lage der Doppelbindung in der Apocholsäure ist also C_8-C_{14} anzunehmen. Im Gegensatz zu der Apocholsäure und der Dioxycholensäure liefert die Isodioxycholensäure bei der Dehydrierung eine Diensäure, die von den stereoisomeren Diensäuren vollkommen verschieden ist. Auf Grund dieser Tatsache nehme ich an, dass die Isodioxycholensäure in der Reihe des Ergosterins kein Analogon hat. Für die Lage der Doppelbindung in der Isodioxycholensäure bleibt also nur C_8-C_9 übrig.

Die Zusammenhänge in der Cholsäure-Reihe werden am besten durch eine der Ergosterin-Reihe ähnliche Tabelle (siehe Seite 55) deutlich gemacht.

zu Seite 55: Cholsäure-Reihe

a) Boedecker, B. 53, 1852 (1920)
b) Boedecker u. Volk, B. 54, 2489 (1921)
c) Boedecker u. Volk, B. 55, 2302 (1922)
d) Borsche u. Todd, H. 197, 173 (1931)
e) Wieland u. Deulofen, H. 198, 127 (1931)
f) Wieland u. Dane, H. 206, 243 (1932)
g) Wieland u. Dane, H. 212, 263 (1932)
h) Yamasaki, Journ. of biol.Chem. 18, 311 (1933); H. 220, 42 (1933)
i) Yamasaki, H. 233, 10 (1935)
k) Rosenheim u. King, Chem. and Ind. 1932, 954
l) Callow, Chem. Soc. 1936, 462
m) Wieland, Dietz u. Ottawa, H. 244, 194 (1936)
n) Sihm, H. 257, 232 (1939)


Pt, Pd + H_2 c)e)
Br_2 b)c)
$KMnO_4$ d)
SeO_2 l)
Δ8,14(Δ8,9)
[α-Apocholsäure
β-Apocholsäure]
$C_6H_5CO_3H$ e)m)
h)i)m)
HCl
$-H_2O$ a)
wasserabspal-
tendes Mittel
Apocholsäureoxyd
H_2O d)
i)k)
HCl
Licht n)
Δ8,9(Δ8,14)
Isodioxycho-
lensäure
Cholsäure
[α-Dioxycholadiensäure
β-Dioxycholadiensäure]
h)i)m)
HCl
$-H_2O$ a)
H_2O
Br_2 m)
wasserabspal-
tendes Mittel
Dioxycholensäureoxyd e)f)
$C_6H_5CO_3H$ e)
Δ7,8(Δ14,15)
Dioxycholensäure
Br_2 c)
SeO_2 l)
Isodioxycholadien-
säure
Pt + H_2 c)
Desoxycholsäure
Cholsäure-Reihe

Anthropodesoxycholsäure-Reihe.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Anthropodesoxycholsäure, mit der ich mich im Verlaufe vorliegender Arbeit eingehender beschäftigte. T a k a h a s h i (1) konnte bei Behandlung der Taurochenodesoxycholsäure mit zweifach verdünnter HCl eine Doppelbindung einführen und die entstandene ungesättigte Säure durch Hydrolyse in die freie ungesättigte Monooxysäure $C_{24}H_{38}O_3$ vom Schmelzpunkt 160° und $[\alpha]_D^{20} = + 71.0°$ überführen, die er Apochenodesoxycholsäure nannte. Die Säure hat eine Doppelbindung, die gegen katalytischen Wasserstoff beständig ist.

Bei Behandlung der freien Chenodesoxycholsäure mit konz. HCl konnten Y a m a s a k i und T a k a h a s h i (2) eine kristallisierte Säure erhalten, die einen Schmelzpunkt von 170° zeigte, der durch mehrfache Kristallisation auf 185° gebracht werden konnte. Bei der Hydrierung dieser Oxycholensäure vom Schmelzpunkt 185° konnten zwei Fraktionen erhalten werden, die sich durch ihre Löslichkeit in Alkohol unterschieden. Die eine dieser Säuren konnten Y a m a s a k i und T a k a h a s h i als Lithocholsäure identifizieren. Während es sich bei der zweiten Fraktion um eine neue Säure, von den Autoren Apochenodesoxycholsäure genannt, vom Schmelzpunkt 196° und $[\alpha]_D^{20} = + 77.0°$ handelt. Auf Grund dieser Tatsache nehmen Y a m a s a k i und T a k a h a s h i an, dass die Säure 185° nicht einheitlich ist, sondern aus einem schwer trennbaren Mischkristall besteht, der bei der Hydrierung dadurch ge-

---

1) Takahashi, H. 255, 277 (1938).
2) Yamasaki u. Takahashi, H. 256, 21 (1938).

trennt wird, dass die eine Komponente hydriert wird, während die zweite unverändert bleibt.

Bei einer Nacharbeitung der Ergebnisse vorgenannter Autoren konnte ich bei der Behandlung der Anthropodesoxycholsäure mit konz. HCl in Eisessig eine durchaus einheitlich aussehende Säure erhalten, die einen Schmelzpunkt von 171° hatte. Beim Umkristallisieren konnte diese, selbst unter dem Mikroskop einheitlich aussehende Säure, in drei Fraktionen zerlegt werden, die durch den Unterschied in der Löslichkeit der freien Säuren in Alkohol, wie auch der Ammonsalze in Wasser getrennt werden konnten. Zwei dieser Produkte, die jedoch nur in geringer Menge erhalten wurden, zeigen einen Schmelzpunkt von 163-171°, unterscheiden sich jedoch in der Drehung:
$[\alpha]_D^{21}$ = + 53.3° und Schmp. 179°, $[\alpha]_D^{21}$ = + 108°.
Die dritte der erhaltenen Fraktionen, die den Hauptteil des Reaktionsproduktes darstellte, hat einen Schmelzpunkt von 184° und einen Drehwert:
$[\alpha]_D^{21}$ = + 81.0°.

Wenn ich jedoch die Anthropodesoxycholsäure mit nur 25 %iger HCl in Äther behandelte, erhielt ich ein Reaktionsprodukt, aus dem nur die bei 160-161° und 162-164° schmelzenden Säuren isoliert werden konnten und zwar mit den Drehwerten:
1) $[\alpha]_D^{21}$ = + 50.2° 2) $[\alpha]_D^{21}$ = + 124° +).
Bei der ersten dieser Säuren dürfte es sich um die Apochenodesoxycholsäure von T a k a h a s h i handeln.

+) Die Unterschiede in den Drehwerten der beiden Apochenodesoxycholsäuren, die einmal durch Behandlung mit konz. HCl erhalten wurden, das andere Mal durch Behandlung mit 25 %iger HCl, kommen wahrscheinlich dadurch zustande, dass ich zur Bestimmung der Drehwerte nur äusserst geringe Mengen Substanz zur Verfügung hatte.

Bei Behandlung der Säure 184° mit Pt [+)] wird diese quantitativ in eine bei 193° schmelzende Säure überführt $[\alpha]_D^{21}$ = + 78.5°; hierbei dürfte es sich um die ß-Apochenodesoxycholsäure handeln. Auf Grund dieser Versuche ist eindeutig bewiesen, dass die Säure 184° durchaus einheitlich ist. Die Aufteilung der Säure bei der Hydrierung in zwei Fraktionen kommt dadurch zustande, dass unter der Wirkung des Pt eine Wanderung der Doppelbindung eintritt, während gleichzeitig durch den katalytischen Wasserstoff eine Hydrierung der ursprünglichen Doppelbindung stattfindet, also Wanderungsgeschwindigkeit der Doppelbindung und Hydriergeschwindigkeit der Doppelbindung von etwa gleicher Größenordnung sind. Die bei 184° schmelzende Säure, die Anthropooxycholensäure nimmt katalytischen Wasserstoff auf, weswegen für die Lage der Doppelbindung entweder C_7-C_8 oder C_{14}-C_{15} in Frage kommt, wovon ich die Lage C_7-C_8 für wahrscheinlich halte. Vielleicht ist die Entscheidung über die Lage der Doppelbindung möglich auf Grund der von C a l l o w und Y o u n g (1) gemachten Erfahrungen in der Sterinreihe, dass der Wert der optischen Drehung abhängig ist von der jeweiligen Lage der Doppelbindung.

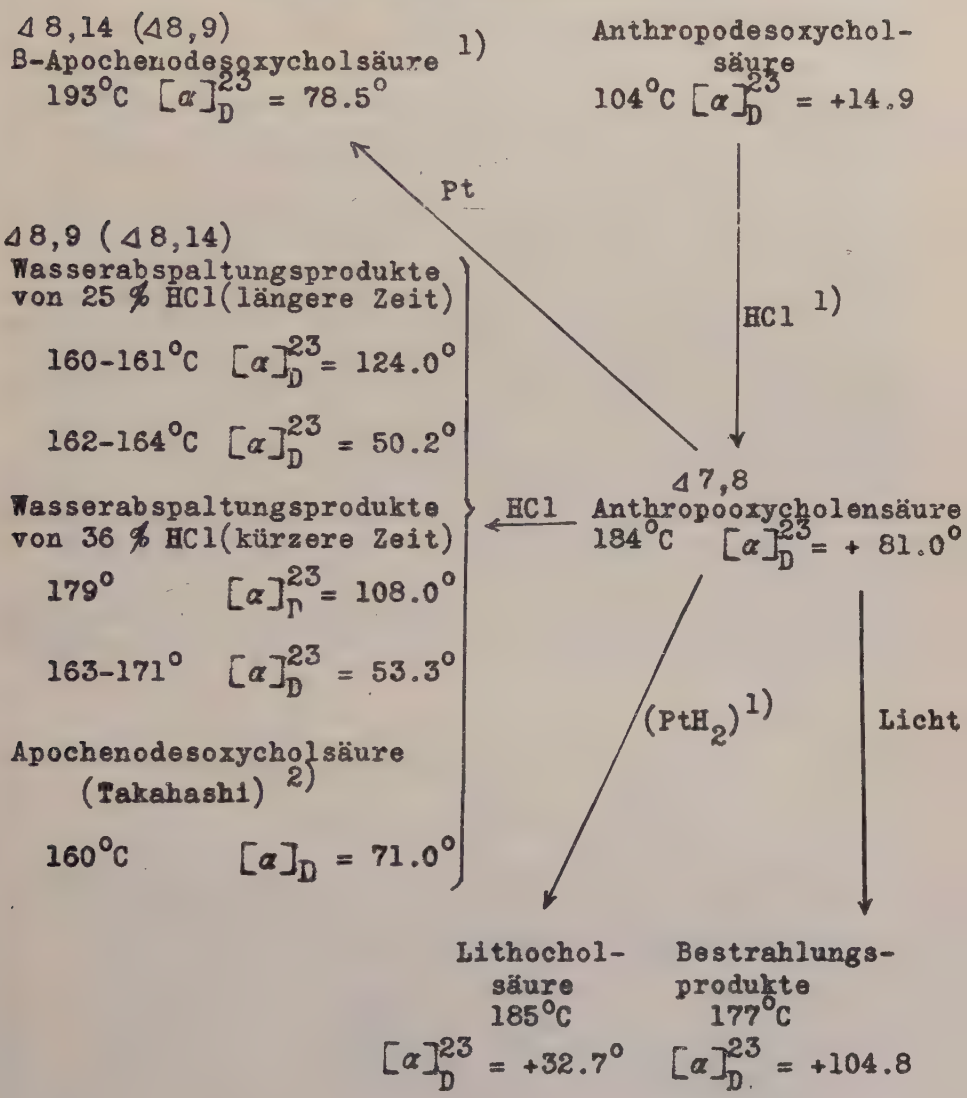
Im weiteren Verlauf meiner Arbeit versuchte ich die Anthropooxycholensäure unter der Wirkung von Br_2 oder OsO_4 in eine Diensäure zu überführen, was mir jedoch nicht gelungen ist.

Die gesamten oben genannten Zusammenhänge sind aus folgender Tabelle (Seite 59) zu entnehmen.

+) In diesem Zusammenhange ist von Interesse, dass die Umlagerung einer Doppelbindung unter der Wirkung von Platin nur in Gegenwart von Wasserstoff vor sich geht. Ähnliche Verhältnisse trafen R i c h t e r und W o l f f (B. 59, 1733 [1926]) beim Pinen an.

1) P. Callow u. Young, Proc.Roy.Soc. London, Ser.A, Vol. 157 (1936).

Anthropodesoxycholsäure-Reihe



1) Yamasaki u. Takahashi, H. 256, 21 (1938).
2) Takahashi, H. 255, 277 (1938).

Experimenteller Teil.

Nacharbeit der Darstellung von Anthropooxycholensäure Schmp. 184° nach Yamasaki und Takahashi (1).

1 g Anthropodesoxycholsäure, gewonnen aus Gänsegalle Schmp. 104°, $[\alpha]_D^{21}$ = + 14.9°, wurde in 5 ccm heißem Eisessig gelöst und nach dem Erkalten mit 14 ccm konz.HCl (38 %) versetzt und 6 Stunden stehen gelassen. Es trat zunächst eine schwache Gelbfärbung auf, die nachher in schwach Rotviolett überging. Nach 20 Min. setzte Trübung ein, die sich unter dem Mikroskop als kleine, jedoch einheitliche Kristalle herausstellte. Man erhält so 0.85 g eines sehr schön weißen Acetates. Dieses Produkt wurde verseift durch zweistündiges Kochen mit 75 ccm 1 n KOH, angesäuert und abfiltriert, dann aus Essigester umkristallisiert, Schmp. 173°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Alkohol und Wasser wurden schöne lange Nadeln vom Schmp. 184° erhalten.

Drehwert.

E = 3.7 mg; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr

α = + 0.15° $[\alpha]_D^{23}$ = 81.0°

4.012 mg Subst. (bei 100° i.V. sublimiert, konst. Abnahme 0.28 mg bei 6.995 mg Subst.); 11.316 mg CO_2, 3.589 mg H_2O

$C_{24}H_{38}O_3$	Ber.	C	76.94	H	10.23
	Gef.		76.92		10.01
(Yamasaki und Takahashi)	Gef.	C	76.41		10.60
			76.65		10.64

1) H. 256, 21 (1938).

Derselbe Versuch wurde mit einem Ansatz von 17 g wiederholt. Nach Abfiltrieren des entstandenen Anthropooxycholensäureacetats wurde das Filtrat mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt und dreimal mit je 200 ccm Äther ausgeschüttelt. Der Äther wurde dann mit Wasser gewaschen und abgedampft. Die zurückbleibende Substanz wurde in heißem Alkohol gelöst, mit Wasser und einigen ccm HCl versetzt und über Nacht in den Eisschrank gestellt, wodurch die Kristallisation des Anthropooxycholensäureacetats erzielt werden konnte. Das Filtrat wurde erhitzt, mit Wasser versetzt und für einen Monat in den Eisschrank gestellt. Nach dieser Zeit hatte sich eine Gallerte gebildet, die, wenn auch langsam, von der Flüssigkeit abfiltrierbar war. Während die Anthropooxycholensäure leicht ein in Wasser lösliches Ammoniumsalz bildet, konnte die Gallerte selbst durch Kochen mit Ammoniak nicht in Lösung gebracht werden. Es wäre dies eine Möglichkeit gewesen, die Gallerte von etwa noch anwesender Anthropooxycholensäure zu befreien. Die Substanz hatte keinen scharfen Schmelzpunkt: Schäumen bei 160°, flüssig bei 230°. Getrocknet zeigte dieses Produkt eine spezifische Drehung:

4.0 mg Subst.; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr

$\alpha = + 0.52^{\circ}$ $\quad [\alpha]_D^{23} = + 260.0^{\circ}$

3.888 mg Subst. (bei 100° i.V. Abnahme von 0.285 mg bei 5.090 mg Subst.): 11.004 mg CO_2, 3.525 mg H_2O

$C_{24}H_{38}O_3$	Ber.	C	76.94	H	10.23
$C_{23}H_{33}O_3$	Ber.		77.31		9.24
	Gef.		77.18		9.22

Die Liebermann'sche Reaktion war ähnlich der der Anthropodesoxycholensäure (184° Yamasaki und Takahashi), nämlich rosa. Es ist anzunehmen, dass es sich bei dieser Substanz vielleicht um ein Polymerisationsprodukt handelt, das unter der Wirkung der HCl entstanden ist.

Versuche zur Trennung der Wasserabspaltungsprodukte aus Anthropodesoxycholsäure nach Yamasaki.

Bei der Wasserabspaltung erhält man als erstes Kristallisat eine Säure mit dem Schmp. 173°, deren Schmelzpunkt - wie schon Yamasaki und Takahashi gezeigt haben - durch mehrmaliges Umkristallisieren auf 185° steigt. Ich habe nun die Säure (Schmp. 173°), die sich auch schon in schönen Kristallen aus der Lösung abscheidet, näher untersucht. In einem Versuch löste ich 2 g Säure 173° in einer Mischung von 20 ccm konz. Ammoniak und 80 ccm Wasser. Dabei entstand ein in Wasser schwerlösliches Ammoniumsalz. Das abfiltrierte Ammoniumsalz wurde dann in die freie Säure überführt, die aus verdünntem Alkohol schön kristallisiert erhalten werden konnte und deren Schmelzpunkt von 155° durch Umkristallisieren aus verdünnter Essigsäure bis 170° stieg. Diese Substanz wurde nun in 95 %igem Alkohol heiß gelöst und fraktioniert kristallisiert. Es konnten 5 Fraktionen erhalten werden:

1)	Schmp. 181°	$[\alpha]_D^{23}$ = + 106°
2)	Schmp. 180-181°	$[\alpha]_D^{23}$ = + 77.5°
3)	Schmp. 173-177°	$[\alpha]_D^{23}$ = + 96.3°
4)+)	Schmp. 163-171°	$[\alpha]_D^{23}$ = + 53.3°
5)	Schmp. 164°	$[\alpha]_D^{23}$ = + 100°

+) 4. Fraktion: Schmp. 163-171°
Spez. Drehung: 3.0 mg Subst.; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr; α = +0.08° $[\alpha]_D^{23}$ = 53.3°

CH-Bestimmung.
Erste Verbrennung: 4.038 mg Subst. (bei 100° i.V., sublimiert anfangs, wird dann konst. Abnahme 0.125 mg von 4.235 mg):
11.240 mg CO_2, 3.594 mg H_2O, keine Asche.

Die erste Fraktion mit dem Schmp. 181° ist die noch nicht ganz reine Säure von Y a m a s a k i , wofür auch der hohe Drehwert spricht. Mit sinkendem Schmelzpunkt der einzelnen Fraktionen ändert sich auch der Drehwert, der immer kleiner wird und bei der 4. Fraktion seinen tiefsten Wert von $[\alpha]_D$ = + 53.3° erreicht.

Die Mutterlauge des schwerlöslichen Ammoniumsalzes wurde nun erwärmt, bis ein Teil des Ammoniaks entfernt war. Das dabei ausfallende Ammoniumsalz wurde ebenfalls in die freien Säuren überführt und diese wurden fraktioniert kristallisiert.

1) +) Schmp. 179° $[\alpha]_D^{23}$ = + 108°

2) Schmp. 167-170° $[\alpha]_D^{23}$ = + 104°

$C_{24}H_{38}O_3$ Ber. C 76.94 H 10.23
Gef. 75.91 9.96

Zweite Verbrennung: 2.511 mg Subst. (bei 100°C i.V.; sublimiert anfangs, wird dann konstant. Abnahme 0.112 mg von 2.685 mg Subst.): 6.994 mg CO_2, 2.178 mg H_2O, keine Asche.
Gef. C 75.95 H 9.70

+) 1. Fraktion Schmp. 179°
Spezifische Drehung: 39.9 mg Subst.; 2 ccm Methanol; 2 dm-Rohr

α = + 4.29° $[\alpha]_D^{23}$ = 108.0°

CH-Bestimmung: 4.185 mg Subst. (bei 100°C i.V.; sublimiert anfangs, wird dann konstant. Abnahme von 0.050 mg bei 4.450 mg): 11.817 mg CO_2, 3.756 mg H_2O; 0.019 mg Asche.

$C_{24}H_{38}O_3$ Ber. C 76.94 H 10.23
Gef. 77.38 10.09

3) Schmp. 160-170° $[\alpha]_D^{23}$ = + 101°

4) Schmp. 163-170° $[\alpha]_D^{23}$ = + 100°

5) Schmp. 165-167° $[\alpha]_D^{23}$ = + 64,8°

Auch hierbei hat die erste Fraktion den höchsten Drehwert (108°), der auch hier mit zunehmender Fraktionierung bis zu seinem tiefsten Wert (64,8°) sinkt. Der höchste Drehwert, den Y a m a s a k i findet, ist 96° für die Säure Schmp. 185°.

Aus dem bisher Gesagten geht hervor, dass die Säure 173° ein Gemisch mindestens zweier Gallensäuren ist, von denen die eine einen Drehwert über 100°, die andere aber von etwa 50° besitzt. Die Reindarstellung der Säure mit dem niedrigen Drehwert ist nicht gelungen. T a k a h a s h i (1) hat aus Taurochenodesoxycholsäure mit verdünnter HCl eine Apochenodesoxycholsäure erhalten, die ebenfalls einen niederen Schmelzpunkt (160°), aber einen höheren Drehwert hat $[\alpha]_D$ = + 71°.

Nun konnte ich aber noch mit 25 %iger HCl aus Anthropodesoxycholsäure zwei Wasserabspaltungsprodukte isolieren Schmp. 160-161°, $[\alpha]_D$ = + 124° und Schmp. 162-164° $[\alpha]_D$ = + 50,2°. Es besteht nun die Wahrscheinlichkeit, dass auch diese beiden Säuren sich unter den obigen Wasserabspaltungsprodukten befinden, und sie auch verantwortlich zu machen sind für die wechselnden Drehwerte und Schmelzpunkte.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass möglicherweise noch keine der Säuren ganz rein ist, sondern noch Mischkristalle von Säuren mit verschieden hohen Drehwerten darstellen.

---

1) Takahashi, H. 255, 277 (1938).

Über die aus Anthropodesoxycholsäure mit 25 %iger HCl entstehenden Anthropodesoxycholensäuren.

1.5 g Anthropodesoxycholsäure wurden in 60 ccm mit Äther gesättigter 25 %iger HCl gelöst und drei Monate in einem geschlossenen Gefäß belassen. Nach dieser Zeit wurde der Äther entfernt und es blieb eine hellbraune harzige Masse (1.38 g) zurück. Das Produkt wurde in abs. Alkohol aufgenommen und mit Natriumäthylat versetzt. Man erhielt zwei Fraktionen, von denen die eine in Alkohol schwerlöslich war und als braune Schmiere vorlag. Aus dieser konnte nach Zerlegung mit HCl und Äther ein gelbes Öl erhalten werden. Aus dem anderen in Alkohol leicht löslichen Teil wurde beim Stehen im Eisschrank ein Kristallisat erhalten. Das Natriumsalz wurde nach Überführung in die freie Säure aus Eisessig und wässrigem Alkohol umkristallisiert. Beim Umkristallisieren erhielt man zwei Produkte mit annähernd gleichen Schmelzpunkten
A) 160-161°, B) 162-164°, die sich in der optischen Drehung jedoch erheblich unterschieden:
A) $[\alpha]_D^{21} = +124^\circ$ B) $[\alpha]_D^{21} = +50.2^\circ$.
Das eine Produkt kristallisiert in feinen Nadeln, das andere in dünnen Blättchen.

A) Spezifische Drehung

2.9 mg Subst.; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr
$\alpha = +0.18^\circ$ $[\alpha]_D^{23} = 124.0^\circ$

CH-Bestimmung

4.0310 mg Subst. (bei 100°C i.V.; Abnahme 0.01 mg bei 4.041 mg): 11.371 mg CO_2, 3.613 mg H_2O, 0.011 mg Asche

$C_{24}H_{38}O_3$	Ber.	C	76.94	H	10.23
	Gef.		77.14		10.04

B) Spezifische Drehung

19.5 mg Subst.; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr

α = + 0.49° $[\alpha]_D^{23}$ = 50.2°

CH-Bestimmung

4.126 mg Subst. (100°C i.V.; keine Abnahme):
11.522 mg CO_2, 3.806 mg H_2O, keine Asche

$C_{24}H_{38}O_3$	Ber.	C	76.94	H	10.23
	Gef.		76.16		10.33

Trotz ähnlicher Schmelzpunkte nehme ich auf Grund der verschiedenen Kristallformen sowie der erheblichen Unterschiede im Drehwert und der verschiedenen Löslichkeit in Alkohol an, dass es sich um zwei verschiedene Substanzen handelt.

Isomerisation von Anthropooxycholensäure (184°) durch Pt in ß-Apochenodesoxycholsäure.

0.1 g PtO_2 (nach A d a m s) in 25 ccm Eisessig suspendiert, werden mit Wassersoff reduziert. Nach der Reduktion wird der Wasserstoff in der Birne durch Stickstoff ersetzt und 1 g Anthropooxycholensäure (184°) nach Y a m a s a k i und T a k a h a s h i zugegeben und 12 Stunden geschüttelt. Nach dieser Zeit wurde eine kleine Probe entnommen und auf Grund der tiefroten Liebermann-Reaktion festgestellt, dass die Substanz unverändert war. Nach Verseifung des gebildeten Acetats zeigte die Substanz einen Mischschmelzpunkt mit dem Ausgangsmaterial ohne Depression. Jetzt wurde der Stickstoff in der Birne durch Wasserstoff ersetzt und nochmals 12 Stunden geschüttelt, hierauf wurde die Substanz 12 Stunden auf dem Sandbad am Rückfluss gekocht. Leider wurde vor dem Erhitzen am Rückfluss aus der Lösung keine Probe entnommen, so dass die Entscheidung, ob die eingetretene

Veränderung der Substanz bereits beim Schütteln mit Pt in der Wasserstoffatmosphäre oder erst beim Kochen am Rückfluss eingetreten war. Die Liebermann-Reaktion der Ausgangssubstanz, der Anthropooxycholensäure ist: stark rosa, tief rosa, endlich bräunlichrot. Die jetzt entstandene Substanz, die ß-Apochenodesoxycholsäure, zeigt folgende Liebermann-Reaktion: sehr schwach rosa, schwach rosa, schwach gelb. Nach Abfiltrieren des Pt wird zu der heißen Eisessiglösung Wasser bis zur Trübung zugegeben. Beim Erkalten scheiden sich gleichmäßige Rosetten ab, die einen Schmelzpunkt von 160° haben. Ein Mischschmelzpunkt mit dem Acetat der Ausgangssubstanz (166°) zeigte eine Depression und zwar 24°. Durch Verseifen des Acetats mit 25 ccm 20-%iger KOH während 3 Stunden erhielt man die freie Säure, die nach Umkristallisieren aus 95 %igem Alkohol sich als schöne Nadeln abscheidet und einen Schmelzpunkt von 193° hat. Im Mischschmelzpunkt zeigt diese Säure mit der freien Anthropooxycholensäure (184°) eine Depression. Mischschmelzpunkt 179°. Diese Säure ist ihrem Schmelzpunkt und Verhalten nach identisch mit der von Y a m a s a k i und T a k a h a s h i dargestellten ß-Apochenodesoxycholsäure (1).

$[\alpha]_D$ = + 77° nach Y a m a s a k i

$[\alpha]_D$ = + 78.5° gefunden

E = 9.7 mg; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr;

α = + 0.38°

CH-Bestimmung:

4.532 mg Subst. (bei 100°C i.V.; Abnahme von 0.018 mg bei 4.590 mg Subst.): 12.712 mg CO_2, 4.182 mg H_2O, 0.018 mg Asche

$C_{24}H_{38}O_3$	Ber.	C	76.94	H	10.23
	Gef.		76.80		10.36
(Yamasaki u. Takahashi)			76.58		10.15
			77.06		10.28

1) Yamasaki u. Takahashi, H. 256, 25 (1938).

Auf Grund der Empfindlichkeit der Liebermann-Reaktion kann gesagt werden, dass die Umwandlung quantitativ vor sich gegangen ist, da bereits vor dem Umkristallisieren die Substanz eine Farbreaktion zeigte, die von der der Ausgangssubstanz - wie oben beschrieben - vollkommen verschieden ist.

Um festzustellen, ob die Isomerisation beim Schütteln mit Pt oder beim Kochen am Rückfluss mit Pt eingetreten ist, versuchte ich die Substanz nur durch Kochen am Rückfluss zu isomerisieren, jedoch ohne Erfolg und auch erneute Versuche, die einmal geglückte Isomerisation durch Schütteln mit Pt zu wiederholen, waren vergeblich.

Bestrahlung der Anthropooxycholensäure mit ultraviolettem Licht.

1.5 g Anthropooxycholensäure (nach Y a m a s a k i und T a k a h a s h i, Schmp. 184°, $[\alpha]_D^{21}$ = + 81°) in 25 ccm Eisessig gelöst, wurden in eine 22 cm lange Röhre gefüllt und mit einer Quarzlampe (220 Volt und 1200 Ohm) eine Woche hindurch Tag und Nacht in einem Abstand von 5 cm bestrahlt. Für Kühlung wurde durch einen Ventilator gesorgt. Die vorher farblose Lösung hatte sich nach dieser Zeit orange gefärbt. Der Eisessig wurde erwärmt und bis zur Trübung mit Wasser versetzt, wobei ein Kristallisiertes Acetat der Säure Schmp. 147-155° ausfiel (1.0 g).

E = 3.0 mg; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr

α = + 0.04° $[\alpha]_D^{23}$ = 26.6°

Das erhaltene Acetat (1 g) wurde mit 20 ccm 10-%iger KOH durch zweistündiges Kochen am Rückfluss-

kühler verseift. Die freie Säure wurde durch HCl abgeschieden, in 96 %igem Äthanol gelöst und durch Zusatz von H_2O kristallisiert. Die Säure kristallisiert in Nadeln. Schmp. 177°.

E = 18.0 mg; 2 ccm Methanol; 1 dm-Rohr

α = + 0.94° $\quad [\alpha]_D^{21}$ = + 104°

Liebermann-Reaktion: farblos, nach einiger Zeit sehr schwach rosa. Diese Farbreaktion hat Ähnlichkeit mit der der ß-Apochenodesoxycholsäure.

CH-Bestimmung:

4.472 mg Subst. (bei 100°C i.V. getr.; Abnahme von 0.012 mg bei 4.955 mg Subst.): 12.557 mg CO_2, 4.006 mg H_2O, keine Asche

$C_{24}H_{38}O_3$	Ber.	C	76.94	H	10.23
	Gef.		76.54		10.02

Lebenslauf

Ich bin geboren am 10. Juli 1910 in South Bend, Indiana, USA., als Sohn des Ingenieurs und Baumeisters Oliver Wallis Burke und seiner Ehefrau Charlotte, geb. King.

Nach dem Besuch der Volksschule ging ich zur „Detroit Country Day School", die ich im Juni 1927 mit dem Abschlusszeugnis verließ, auf Grund dessen ich an der Universität Michigan von 1927-1928 studierte. Mein Studium setzte ich dann bis Juni 1931 an der Harvard-Universität fort, war dann im Wintersemester 1931/32 an der Universität Detroit und im Sommersemester 1932 wieder auf der Harvard-Universität.

Von 1932 bis Anfang des Jahres 1936 war ich berufstätig in Detroit. Im Sommersemester 1936 kam ich nach Deutschland und war in diesem Semester in Freiburg i.B. Im Wintersemester 1936/37 kehrte ich zur Harvard-Universität zurück zur Ablegung meines Examens. Es wurde mir der B.S.-Grad zuerkannt.

Im Sommersemester 1937 kam ich wieder nach Deutschland zurück und begann an der Universität München mit meiner Doktorarbeit. 1939 legte ich mein zweites Verbandsexamen ab.